



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Mikrovermehrung von *Dioscorea*-Arten über Nodienkultur und Mikroknollen

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Verfasserin / Verfasser:	Mag .phil. Dina Elsayed-Ali
Matrikel-Nummer:	8903593
Studienrichtung /Studienzweig (lt. Studienblatt):	Pharmazie
Betreuerin / Betreuer:	Univ. Prof. Dr. Dr. h. c. Brigitte Kopp

Wien, im März 2010

Ich danke Frau Univ.Prof.Dr.Dr.h.c. Brigitte Kopp, Herrn Ass. Prof. Dr. Christoph Wawrosch und Frau Ing. Brigitte Grauwald für die engagierte Betreuung meiner Arbeit und meinen KollegInnen für die zahlreichen Ratschläge.

Dank gilt auch Herrn Mag. Jan Cupal sowie meinem Vater, Mag. Pharm. Elsayed Elsayed-Ali.

Abkürzungen

BAP 6-Benzylaminopurin, 6-Benzyladenin

IAA Indol-3-Essigsäure

IBA Indol-3-Buttersäure

μ M Mikromol pro Liter

MS Murashige und Skoog

NAA α -Naphthylessigsäure

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Problemstellung	1
2	Material und Methoden	3
2.1	Pflanzenmaterial	3
2.2	Nährmedien	3
2.3	Kulturbedingungen	5
2.4	Kulturauswertung	6
3	Ergebnisse	9
3.1	Vermehrung über Nodienkultur	9
3.1.1	<i>D. mangenotiana</i>	9
3.1.2	<i>Dioscorea</i> -Intermediat	14
3.1.3	<i>D. cayenensis</i>	19
3.2	Vermehrung von <i>D. cayenensis</i> über Mikroknollen	24
3.2.1	Einfluss der Saccharosekonzentration unter Berücksichtigung der Wuchsstoff- und Lichtverhältnisse	24
3.2.2	Einfluss der α -Naphthylelessigsäure (NAA) unter Berücksichtigung der Saccharosekonzentration und der Lichtverhältnisse	27
3.2.3	Einfluss von Licht unter Berücksichtigung der Wuchsstoff- und Saccharosekonzentration	29
3.2.4	In vitro-Keimung von Mikroknollen	30
4	Diskussion	33
5	Zusammenfassung	43
6	Literatur	47
A	Lebenslauf	51

1 Einleitung und Problemstellung

Die Gattung *Dioscorea* (Familie *Dioscoreaceae*) umfaßt etwa 600 Species, die auch als Yams bezeichnet werden. Es handelt sich dabei um monocotyle tropische bzw. subtropische Pflanzen (Unterklasse *Liliana*), die oberirdisch einjährige, windende Sprosse mit meist herzförmigen Blättern und unterirdisch stärkeführende Knollen bilden (siehe Abb. 1). Die Ausbildung von Knollen begründet auch die Wichtigkeit der Pflanze. In vielen tropischen Ländern, vor allem in Westafrika, aber auch in Mittel- und Südamerika und in der Karibik, stellen Yams ein wichtiges Grundnahrungsmittel dar, ähnlich der Kartoffel (*Solanum tuberosum*) in unseren Breiten. Landwirtschaftliche Bedeutung haben unter anderem *Dioscorea cayenensis*, *Dioscorea rotundata*, *Dioscorea alata* und *Dioscorea bulbifera*, wobei letztere auch stärkehaltige Luftknollen entwickelt (Esdorn und Pirson, 1973).

Eine weitere Bedeutung der Yamspflanze liegt darin, daß die Knollen mancher Arten (etwa *Dioscorea deltoidea* und *Dioscorea floribunda*) Diosgenin enthalten, ein Steroidsapogenin, welches als Ausgangsstoff für die Partialsynthese von Sexualhormonen und Corticosteroiden dient (Heß, 1992).

So groß die landwirtschaftliche Bedeutung der Yamspflanze ist, so groß sind auch die Schwierigkeiten, die sich bei ihrer Kultivierung ergeben, was zu zahlreichen Forschungsarbeiten geführt hat, die sich dieses Problems annehmen. Die Problematik der Vermehrung von Yams besteht einmal darin, daß eine züchterische Verbesse-



Abbildung 1: Yamspflanze in Glashauskultur (links) und verschiedene Knollenarten (rechts).

rung schwierig ist, weil es kaum zur Bildung von Blüten und keimfähigen Samen kommt (Van Staden und Fowlds, 1992). Bei der in der Landwirtschaft üblichen vegetativen Vermehrung durch Saatknollen wird nicht nur der Ertrag vermindert, sondern es werden auf diesem Weg auch virale Pflanzenkrankheiten (Mosaikkrankheit) und Pilzerkrankungen weitergegeben (Brücher, 1977). Hier ist die Problematik ganz ähnlich wie bei der Kartoffel gelegen, und ebenso wie dort versucht man den Problemen unter anderem mit Hilfe der Biotechnologie beizukommen. Schon 1960 wurden erste Untersuchungen angestellt, die zeigten, daß die Technik der Gewebekultur eine Möglichkeit darstellt, pathogenfreie Pflanzen zu erhalten (Heß, 1992).

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Mikrovermehrung von Yams über Nodienkultur und über in vitro - Bildung von Mikroknollen. Diese Techniken bieten eine Reihe von Vorteilen: Mittels Nodienkulturen können virusfreie, einheitliche Jungpflanzen in großer Zahl produziert werden, und Mikroknollen bilden leicht transportierbares, unproblematisches Saatgut, welches ohne langwierige Abhärtung gleich ins Glashaus ausgepflanzt werden kann und eine gute Keimrate aufweist. Auch der Versand von Mikroknollen gestaltet sich unkompliziert (Van Staden und Fowlds, 1992).

In dieser Arbeit sollte versucht werden, geeignete Nährmedien zur Mikrovermehrung von Yams zu finden, wobei auf bisherigen Arbeiten aufgebaut wurde (Reichhart, 2005). Ausgegangen wurde aus Gründen der Vergleichbarkeit von den folgenden drei *Dioscorea* Arten: *D. cayenensis*, *D. cayenensis* x *rotundata* (*Dioscorea*-Intermediat) und *D. mangelotiana* 2938.

2 Material und Methoden

2.1 Pflanzenmaterial

In Fortsetzung der Vorgängerarbeiten wurden die drei *Dioscorea*-Klone *D. cayenensis* 01, *Dioscorea*-Intermediat (*D. cayenensis* x *rotundata*) und *D. mangelotiana* 2938 verwendet. Die beiden erstgenannten Klone stammen ursprünglich aus Jamaica, *D. mangelotiana* stammt aus Nigeria (Reichhart 2005).

Die Versuche zur Vermehrung über Nodienkultur wurden mit allen drei Klonen, die Versuche zur Vermehrung über Mikroknollen mit *D. cayenensis* 01 durchgeführt, da hier das meiste Pflanzenmaterial vorhanden war.

Für die Versuche wurden die Sprosse der Pflanzen unter sterilen Bedingungen zerteilt, und zwar so, daß die daraus entstehenden Explantate ein oder zwei Nodien aufwiesen und etwa 1 cm lang waren (siehe Abb. 2).

Die verwendeten Kulturen waren vor Versuchsbeginn mehrere Monate auf wuchsstofffreiem Medium gewachsen.

2.2 Nährmedien

Für die Etablierung der Nodienkulturen wurden in der vorliegenden Arbeit die Wuchsstoffe 6-Benzylaminopurin (BAP) und α -Naphthyllessigsäure (NAA) in ver-

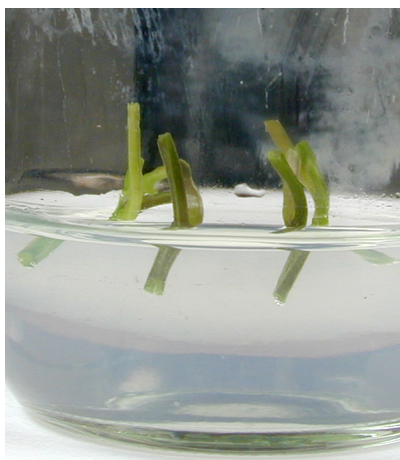


Abbildung 2: Frisch passagierte Nodienkultur von *D. cayenensis* 01.

Medium	BAP [μ M]	NAA [μ M]	Medium	BAP [μ M]	NAA [μ M]
1	0	0	9	5	0
2	0	2,5	10	5	2,5
3	0	5	11	5	5
4	0	10	12	5	10
5	2,5	0	13	10	0
6	2,5	2,5	14	10	2,5
7	2,5	5	15	10	5
8	2,5	10	16	10	10

Tabelle 1: Kombination der Wachstoffsstoffe für die Nodienkulturen

schiedenen Konzentrationen kombiniert, woraus sich 16 Medien ergaben (siehe Tabelle 1).

Für die Versuche zur Induktion von Mikroknollen des Klons *D.cayenensis* 01 wurden Nährmedien gewählt, die NAA und Saccharose in unterschiedlichen Konzentrationen enthielten. Daraus ergaben sich 10 Kombinationen (siehe Tabelle 2, Seite 5).

Die von Murashige und Skoog entwickelte MS-Rezeptur wurde generell als Basismedium verwendet (Murashige und Skoog, 1962).

Die Nährmedien wurden auf folgende Weise zubereitet: Die benötigte Menge Gelrite[®] wurde in Wasser gelöst. Die Stammlösungen der Makroelemente, Vitamine, Spurenelemente wurden gemischt, danach wurden Saccharose und Myo-Inositol beigegeben. Dieser Mischung wurde die Gelrite[®]-Lösung hinzugefügt. Mit destilliertem Wasser wurde auf das gewünschte Endvolumen aufgefüllt. Die Stammlösungen der Wachstoffsstoffe BAP und NAA wurden zuletzt beigegeben. Mittels Zugabe von verdünnter Natronlauge oder Salzsäure wurde der pH-Wert eingestellt (5,6-5,8). Das fertige Medium wurde anschließend in die Hipp-Gläser (Kulturgefäße) abgefüllt, danach erfolgte zwanzigminütige Autoklavierung bei 1 bar Überdruck und 121 Grad Celsius.

Medium	NAA [μ M]	Saccharose [Prozent]
M1	2,5	3
M2	2,5	5
M3	2,5	7
M4	2,5	9
M5	2,5	11
M6	5,0	3
M7	5,0	5
M8	5,0	7
M9	5,0	9
M10	5,0	11

Tabelle 2: Mikroknollen: Kombination von NAA und Saccharose

2.3 Kulturbedingungen

Für die Versuche wurden Babynahrungsgläser der Firma HIPPI als Kulturgefäße verwendet. Die Höhe der Gläser betrug einheitlich 125 mm. In jedes Glas wurden 40 ml Nährmedium eingefüllt; verschlossen wurden die Gefäße mit einem Kunststoffdeckel (MAGENTA B-CAP[®]). Pro Medium wurden 5 Gläser mit je 4 Explantaten angelegt. Somit standen pro Versuch 20 Explantate zur Verfügung.

Die Versuchsdauer betrug jeweils acht Wochen: Reichhart hatte die Versuche über 7 Wochen geführt und eine Verlängerung der Versuchsdauer empfohlen (Reichhart, 2005).

In den für die Versuche genutzten Klimakammern herrschten eine Temperatur von $25 \pm 1^\circ\text{C}$ und eine relative Luftfeuchtigkeit von 50 %. Das notwendige Licht kam von SYLVANIA GROLUX-Lampen, die Lichtstärke betrug $45 \mu\text{Mm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Der Großteil der Explantate wurde einem 16 Stunden- Tag ausgesetzt. Bei den Versuchen zu den Mikroknollen erhielt ein Teil der Explantate 8 Stunden Licht, um den Einfluß der Lichtdauer zu untersuchen.

2.4 Kulturauswertung

Die Nodienkulturen wurden über die acht Wochen Versuchsdauer beobachtet und die mit freiem Auge sichtbare Entwicklung der Pflanzen wurde notiert. Nach Beendigung der Versuche wurden die Pflanzen einer genauen Auswertung unterzogen, indem sie aus den Gläsern genommen, teilweise zerlegt und mittels Millimeterpapier abgemessen wurden. Die Anzahl der Sprosse und die Anzahl an neuen Nodien wurden abgezählt. Auch wurde der Prozentsatz jener Explantate, die Kallus, Wurzeln oder Mikroknollen aufwiesen, festgestellt. Die Anzahl an Medien, die Browning aufwiesen, wurde ebenfalls festgehalten. Folgende Parameter wurden ausgewertet:

- (1) *Anzahl der Sprosse pro Explantat*: Die Anzahl der Haupt- und Seitensprosse, die pro Explantat gebildet wurden.
- (2) *Sprosslänge / Explantat*: Der Durchschnitt der Summen der Sprosslängen (Haupt- und Seitensprosse) , die pro Explantat gebildet wurden. Die Länge wurde immer vom untersten bis zum obersten Nodium gemessen.
- (3) *Die durchschnittliche Sprosslänge*: Eine Rechengröße, die sich aus 1. und 2. ergibt (Die Summe der Sprosslängen pro Explantat wird dividiert durch die Sprossanzahl pro Explantat, wodurch sich die durchschnittliche Länge der gebildeten Sprosse ergibt).
- (4) *Neue Nodien / Explantat*: Die Anzahl der neu gebildeten Nodien pro Explantat.
- (5) *Anzahl der Nodien pro Explantat, aus denen neue Explantate gewonnen werden*: In den Tabellen: Verwertbare Nodien
- (6) *Kallusbildung*: Häufigkeit der Kallusbildung an den Explantaten (%)
- (7) *Wurzeln*: Anzahl der Explantate, die Wurzeln bildeten (%)
- (8) *Mikroknollen*: Anzahl der Explantate, die Mikroknollen bildeten (%)

- (9) *Browning*: Häufigkeit des Vorkommens von braunen Verfärbungen des Nährmediums (%)

Bei den Versuchen zur Mikroknollenbildung gab es zwei auszuwertende Parameter:

- (1) *Anzahl der gebildeten Mikroknollen pro Explantat*
- (2) *Das Gewicht der gebildeten Mikroknollen pro Explantat (mg)*

Die Datenauswertung erfolgte mittels einer mehrfaktiellen Varianzanalyse mit anschließendem Duncan's Multiple Range Test. Für die Berechnungen wurde die Software STATISTICA[®], Version 6.1. von StatSoft Inc., USA, verwendet.

3 Ergebnisse

3.1 Vermehrung über Nodienkultur

3.1.1 *D. mangenotiana*

Drei Wochen nach Anlage der Nodienkulturen konnten bei *D. mangenotiana* einerseits sehr gut entwickelte Explantate mit großen, kräftigen Blättern und dichten, feinen Wurzeln beobachtet werden, andererseits fielen Exemplare auf, bei denen die Sproß- und Blattbildung schwach ausgeprägt war und die nur wenige Wurzeln aufwiesen. Dieser Trend setzte sich bis zum Versuchsende nach acht Wochen fort (siehe Abbildung 3).

Ein Blick auf die in den Medien verwendeten BAP- und -NAA Konzentrationen zeigte, daß sich jene Explantate, die keinerlei Wuchsstoffen oder nur niedrigen

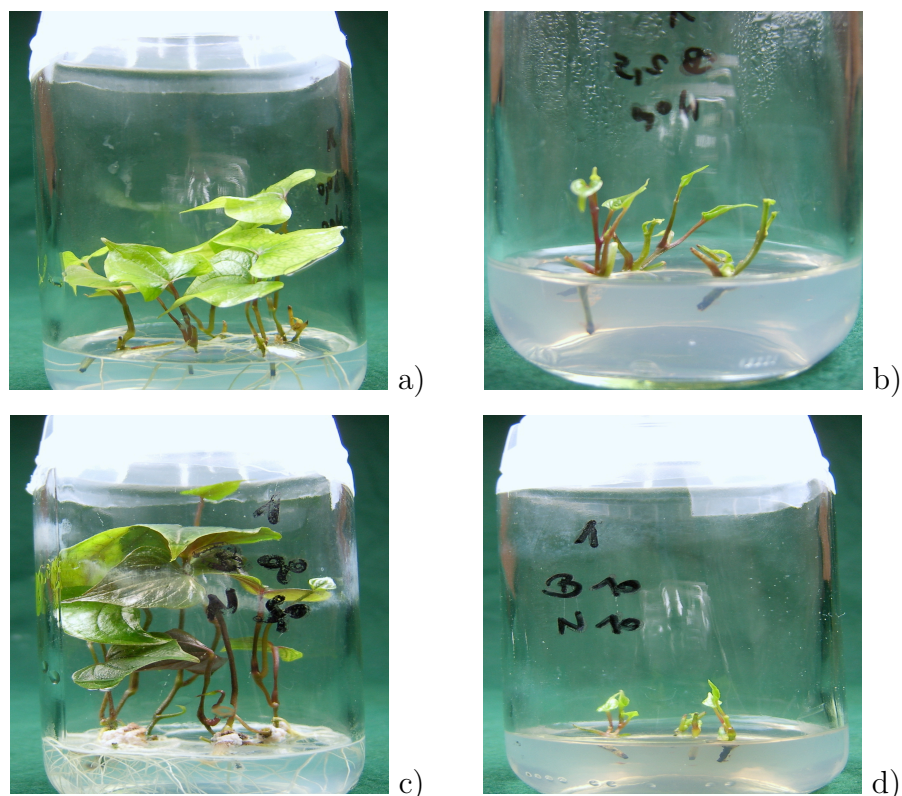


Abbildung 3: Einfluss von BAP und NAA auf die Nodienkulturen von *D. mangenotiana* nach 8 Wochen. a) 0/0 (Vergleich) b) 2.5/0 (zweitbestes Medium) c) 0/5 (bestes Medium) d) 10/10 (ungünstiges Medium). Angaben in μM (BAP/NAA).

Medium	BAP [μ M]	NAA [μ M]	Sprosse [Anzahl]	Sprosse [cm]	Neue Nodien [Anzahl]	Verwertbare Nodien [Anzahl]
1	0	0	1,10 \pm 0,1	12,88 \pm 1,4	1,85 \pm 0,3	1,30 \pm 0,2
2	0	2,5	1,05 \pm 0,1	13,10 \pm 2,2	1,90 \pm 0,3	1,55 \pm 0,3
3	0	5	1,30 \pm 0,1	15,48 \pm 1,9	2,55 \pm 0,4	2,05 \pm 0,3
4	0	10	1,00 \pm 0,1	10,57 \pm 1,4	1,85 \pm 0,2	1,20 \pm 0,2
5	2,5	0	1,65 \pm 0,2	7,86 \pm 1,4	2,45 \pm 0,4	1,65 \pm 0,3
6	2,5	2,5	1,45 \pm 0,2	6,90 \pm 0,9	2,85 \pm 0,3	1,25 \pm 0,3
7	2,5	5	1,50 \pm 0,3	6,21 \pm 1,0	2,65 \pm 0,5	0,90 \pm 0,3
8	2,5	10	1,30 \pm 0,2	7,28 \pm 1,4	2,40 \pm 0,5	0,85 \pm 0,3
9	5	0	1,15 \pm 0,2	6,35 \pm 0,9	1,55 \pm 0,2	0,85 \pm 0,2
10	5	2,5	0,75 \pm 0,2	3,15 \pm 0,9	1,15 \pm 0,3	0,25 \pm 0,1
11	5	5	1,25 \pm 0,3	4,96 \pm 0,9	1,65 \pm 0,3	0,75 \pm 0,2
12	5	10	0,90 \pm 0,1	3,82 \pm 0,7	1,30 \pm 0,2	0,25 \pm 0,1
13	10	0	1,35 \pm 0,2	6,83 \pm 1,5	1,80 \pm 0,4	0,95 \pm 0,3
14	10	2,5	1,00 \pm 0,2	4,35 \pm 0,9	1,45 \pm 0,3	0,40 \pm 0,2
15	10	5	0,65 \pm 0,2	3,28 \pm 0,8	1,15 \pm 0,4	0,25 \pm 0,2
16	10	10	0,75 \pm 0,2	2,60 \pm 0,9	1,00 \pm 0,3	0,20 \pm 0,1

Tabelle 3: Einfluss von BAP und NAA auf Sprossanzahl, Sprosslänge, Anzahl neuer Nodien und Anzahl verwertbarer Nodien in Nodienkulturen von *Dioscorea mangenotiana* (n=20, Mittelwert \pm Standardfehler).

NAA-Konzentrationen ausgesetzt waren, am besten entwickelt hatten. Die Konzentrationen 0/0, 0/2,5 und 0/5 (im folgenden immer BAP/NAA, Angaben immer in μ M) beeinflussten die Nodienkulturen von *D. mangenotiana* hinsichtlich des Habitus am günstigsten.

Der besseren Übersichtlichkeit halber sind die Ergebnisse bezüglich Sproß- und Nodienbildung in zwei Tabellen dargestellt: Tabelle 3 listet die reinen Zahlenwerte mit Standardfehler auf, während Tabelle 4 (Seite 11) die Ergebnisse der Varianzanalyse darstellt.

Die eher schwach entwickelten Explantate waren auf jenen Medien zu finden, die BAP und NAA in höheren Konzentrationen enthielten, etwa 5/10 und 10/10 (siehe auch Tabelle 3 und Tabelle 5, Seite 12).

Medium	BAP [μ M]	NAA [μ M]	Sprosse [Anzahl]	Sprosse [cm]	Neue Nodien [Anzahl]	Verwertbare Nodien [Anzahl]
1	0	0	1,10 ^{abcd}	12,88 ^{ef}	1,85 ^{abcde}	1,30 ^{bcd}
2	0	2,5	1,05 ^{abcd}	13,10 ^{ef}	1,90 ^{abcde}	1,55 ^{cde}
3	0	5	1,30 ^{bcd}	15,48 ^f	2,55 ^{cde}	2,05 ^e
4	0	10	1,00 ^{abc}	10,57 ^{de}	1,85 ^{abcde}	1,20 ^{bcd}
5	2,5	0	1,65 ^d	7,86 ^{cd}	2,45 ^{bcde}	1,65 ^{de}
6	2,5	2,5	1,45 ^{cd}	6,90 ^{bcd}	2,85 ^e	1,25 ^{bcd}
7	2,5	5	1,50 ^{cd}	6,21 ^{abc}	2,65 ^{de}	0,90 ^{abc}
8	2,5	10	1,30 ^{bcd}	7,28 ^{bcd}	2,40 ^{bcde}	0,85 ^{abc}
9	5	0	1,15 ^{abcd}	6,35 ^{bcd}	1,55 ^{abcd}	0,85 ^{abc}
10	5	2,5	0,75 ^{ab}	3,15 ^{ab}	1,15 ^a	0,25 ^a
11	5	5	1,25 ^{abcd}	4,96 ^{abc}	1,65 ^{abcd}	0,75 ^{ab}
12	5	10	0,90 ^{abc}	3,82 ^{abc}	1,30 ^{ab}	0,25 ^a
13	10	0	1,35 ^{bcd}	6,83 ^{bcd}	1,80 ^{abcde}	0,95 ^{abcd}
14	10	2,5	1,00 ^{abc}	4,35 ^{abc}	1,45 ^{abc}	0,40 ^a
15	10	5	0,65 ^a	3,28 ^{ab}	1,15 ^a	0,25 ^a
16	10	10	0,75 ^{ab}	2,60 ^a	1,00 ^a	0,20 ^a

Tabelle 4: Varianzanalyse des Einflusses von BAP und NAA auf die durchschnittliche Sprossbildung, Sprosslänge, Anzahl neuer Nodien und Anzahl verwertbarer Nodien pro Explantat in Nodienkulturen von *Dioscorea mangelotiana*. Werte mit gleichen Kleinbuchstaben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ($p \leq 0.05$, $n=20$).

Die genaue Auswertung von Sprosszahl, Sprosslänge sowie Anzahl der neuen und verwertbaren Nodien ergab nun folgendes Bild: Bei der Entwicklung der Sprosse zeigte sich, daß hohe BAP-Konzentrationen im Verein mit hohen NAA-Konzentrationen – analog der optischen Beobachtungen – negative Auswirkungen auf die Zahl und Länge der Sprosse hatten (etwa die Konzentrationen 5/10, 10/5, 10/10, aber auch 5/2,5). Es entstanden wenige und kurze Sprosse, die dementsprechend kaum Nodien trugen. Die Verwendung von höheren BAP-Konzentrationen alleine ergab ein weit besseres, im Mittelfeld liegendes Ergebnis (5/0; 10/0), wobei NAA alleine noch einmal deutlich besser abschnitt und die Konzentration 0/5 überhaupt die besten Werte lieferte. Auch war zu sehen, daß bei Verzicht auf jegliche Wachstoffsugabe zum MS-Medium ebenfalls sehr gute Ergebnisse bezüglich Sprosszahl und -elongation

Medium	BAP [μ M]	NAA [μ M]	Kallus [%]	Wurzeln [%]	Mikroknollen [%]	Browning [%]
1	0	0	0	100	0	0
2	0	2,5	45	85	0	0
3	0	5	70	90	10	0
4	0	10	70	100	15	0
5	2,5	0	0	10	15	0
6	2,5	2,5	20	25	25	10
7	2,5	5	40	30	65	30
8	2,5	10	20	30	70	65
9	5	0	0	0	80	20
10	5	2,5	25	5	75	50
11	5	5	40	20	70	45
12	5	10	35	10	45	50
13	10	0	0	0	45	40
14	10	2,5	30	10	70	60
15	10	5	30	5	65	55
16	10	10	10	5	55	65

Tabelle 5: Einfluss von BAP und NAA auf Kallusbildung, Wurzelbildung, Mikroknollenbildung und Browning in Nodienkulturen von *Dioscorea mangelotiana* (n=20).

bei *D. mangelotiana* erreicht wurden. Dieses Ergebnis gilt auch für Bildung neuer Nodien. Die Konzentrationen 0/0, 0/2,5, 2,5/0 und 0/5 lieferten hier die besten Werte. Die größte Zahl an zur Vermehrung verwendbaren neuen Nodien lieferte die Konzentration 0/5.

Interessant ist, daß sich das *Dioscorea*-Intermediat ganz anders verhielt – hier wurden mit 0/5 die wenigsten Nodien für die Weitervermehrung erhalten, wie später noch ausgeführt werden wird.

Ohne Wachstumsstoffe entwickelten sich kräftige, gut bewurzelte Pflanzen mit großen Blättern und langen Sprossen, die viele für die Vermehrung brauchbare Nodien lieferten (Länge der Internodien mindestens 1 cm). Eine geringe BAP-Zugabe von 2,5 μ M führte zwar zu erheblich kleineren Blättern und insgesamt kürzeren Sprossen, dafür gab es aber mehr Seitensprosse, die viele neue und brauchbare Nodien liefer-

ten. Mit einer NAA-Konzentration von 5 μM wurde bei *D. manganotiana* das beste Ergebnis erzielt: Die Pflanzen hatten eine schöne Wuchsform mit großen Blättern und vielen feinen Wurzeln, und die langen Sprosse trugen viele für die Vermehrung nutzbare Nodien. Das letzte Bild zeigt sehr schlecht entwickelte Exemplare, die für die Vermehrung nicht nutzbar waren; hier war eine Wuchsstoffkonzentration von 10 μM BAP und 10 μM NAA verwendet worden.

Wie schon bei Reichhart festgestellt, bildete *D. manganotiana* weiße Bakterienkolonien, die innerhalb von vier Wochen bei praktisch allen Kulturen unabhängig vom jeweiligen Medium auftraten. Es handelte sich dabei wahrscheinlich um endophytische Bakterien (Reichhart, 2005). Das Wachstum der Pflanzen wurde durch diese Bakterien nicht beeinträchtigt.

Browning (oxidierte phenolische Verbindungen, die die Pflanze in den Gelbildner abgibt, optisch sichtbar als braunschwarze Verfärbungen) zeigte sich bei allen Explantaten, die einer Wuchsstoffkonzentration ab 2,5/2,5 aufwärts ausgesetzt waren, besonders stark aber bei den Konzentrationen 2,5/10 und 10/10.

Die *Kallusbildung* war bei den höheren NAA-Konzentrationen ohne BAP am stärksten ausgeprägt, hier auffallend besonders die Konzentrationen 0/5 und 0/10, wo es bei 70 Prozent der Explantate zur Kallusbildung kam.

Die Kombination von BAP und NAA zeigte bei der Bildung von *Mikroknollen* günstige Effekte: Mit der Konzentration 5/2,5 etwa wurde eine Mikroknollenbildung von 75 Prozent beobachtet. Das beste Ergebnis wurde hier aber mit 5/0 erreicht (80% Mikroknollenbildung).

Für *D. manganotiana* läßt sich zusammenfassend sagen, daß in Hinblick auf die Vermehrung die besten Ergebnisse ohne jegliche Wuchsstoffzugabe bzw. mit nur geringen Konzentrationen von NAA oder BAP erzielt werden konnten. Die signifikanten Unterschiede sind allerdings gering. Bei der Anzahl der verwertbaren Nodien wurde aber mit der Konzentration 0/5 das signifikant beste Ergebnis erreicht.

3.1.2 *Dioscorea*-Intermediat

Auch bei den Nodienkulturen des *Dioscorea*-Intermediats ergab sich ein besonders gutes Wachstum auf dem Medium ohne Wachstumsstoffe (0/0) und auf den Medien mit niedriger Wachstumsstoffkonzentration. Vor allem die Explantate auf Medium 0/0 wiesen einen kräftigen Wuchs, viele große Blätter und dichte, feine Wurzeln auf (siehe Abbildung 4).

Die genaue Auswertung nach Versuchsende zeigte jedoch, daß die Sprosse der Explantate auf Medium 0/0 eher kurz und krumm gewachsen waren, und so konnten daraus nur wenige Nodien für die Vermehrung gewonnen werden (siehe Tabelle 6, Seite 15). Um für die Vermehrung nutzbar zu sein, mußte die Länge der Internodien mindestens 1 cm betragen.

Der besseren Übersichtlichkeit halber sind die Ergebnisse bezüglich Sproß- und

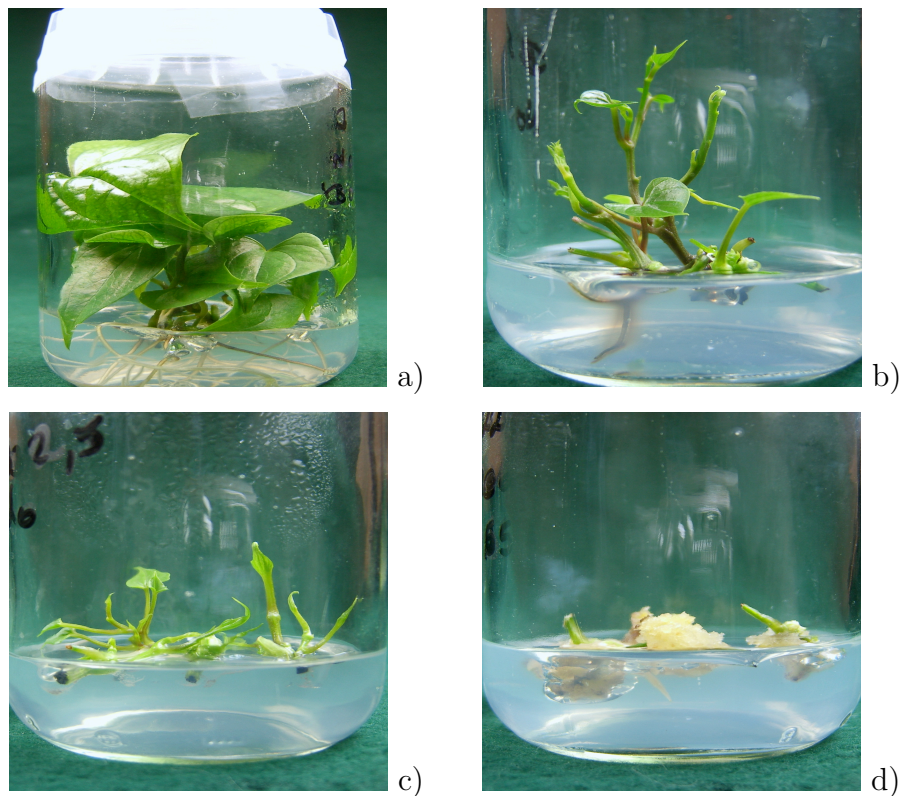


Abbildung 4: Einfluss von BAP und NAA auf die Nodienkulturen von *Dioscorea*-Intermediat nach 8 Wochen. a) 0/0 (Vergleich) b) 5/0 (zweitbestes Medium) c) 2.5/0 (bestes Medium) d) 0/5 (ungünstiges Medium). Angaben in μM (BAP/NAA).

Medium	BAP [μ M]	NAA [μ M]	Sprosse [Anzahl]	Sprosse [cm]	Neue Nodien [Anzahl]	Verwertbare Nodien [Anzahl]
1	0	0	1,70 \pm 0,1	4,82 \pm 0,6	1,95 \pm 0,2	0,45 \pm 0,1
2	0	2,5	0,90 \pm 0,1	6,23 \pm 1,4	1,10 \pm 0,2	0,65 \pm 0,2
3	0	5	0,55 \pm 0,2	2,29 \pm 0,7	0,60 \pm 0,2	0,35 \pm 0,2
4	0	10	0,10 \pm 0,1	0,40 \pm 0,3	0,10 \pm 0,1	0,00 \pm 0,0
5	2,5	0	1,95 \pm 0,2	11,04 \pm 3,0	3,60 \pm 0,6	2,30 \pm 0,6
6	2,5	2,5	2,37 \pm 0,3	7,63 \pm 1,1	3,44 \pm 0,5	1,87 \pm 0,3
7	2,5	5	2,23 \pm 0,3	7,26 \pm 0,7	3,35 \pm 0,5	1,82 \pm 0,3
8	2,5	10	1,60 \pm 0,2	6,51 \pm 0,9	2,27 \pm 0,3	1,20 \pm 0,2
9	5	0	1,65 \pm 0,2	7,43 \pm 1,5	3,30 \pm 0,5	2,00 \pm 0,4
10	5	2,5	1,90 \pm 0,2	10,19 \pm 2,0	3,75 \pm 0,4	1,90 \pm 0,3
11	5	5	2,15 \pm 0,3	5,22 \pm 0,8	2,90 \pm 0,6	1,60 \pm 0,5
12	5	10	2,25 \pm 0,3	4,86 \pm 0,9	3,08 \pm 0,5	1,50 \pm 0,3
13	10	0	1,75 \pm 0,2	7,87 \pm 1,5	3,37 \pm 0,4	1,37 \pm 0,2
14	10	2,5	1,69 \pm 0,2	7,97 \pm 1,4	2,77 \pm 0,4	1,38 \pm 0,3
15	10	5	1,66 \pm 0,2	4,55 \pm 1,2	3,00 \pm 0,3	1,00 \pm 0,1
16	10	10	1,28 \pm 0,2	5,50 \pm 0,9	1,57 \pm 0,2	0,57 \pm 0,1

Tabelle 6: Einfluss von BAP und NAA auf Sprossanzahl, Sprosslänge, Anzahl neuer Nodien und Anzahl verwertbarer Nodien in Nodienkulturen von *Dioscorea*-Intermediat (n=20, Mittelwert \pm Standardfehler).

Nodienbildung in zwei Tabellen dargestellt: Tabelle 6 listet die reinen Zahlenwerte mit Standardfehler auf, während Tabelle 7 (Seite 16) die Ergebnisse der Varianzanalyse darstellt.

Die Auswirkungen des wuchsstofffreien Mediums waren also beim *Dioscorea*-Intermediat ganz andere als bei *D. mangenotiana*, wo Internodien produziert wurden, die sehr gut für die Weitervermehrung nutzbar waren.

Auch bei den anderen Medien konnten solche unterschiedlichen, je nach Species verschiedenen Auswirkungen festgestellt werden. Vor allem in zwei Punkten gab es große Unterschiede: Zum einen reagierte das *Dioscorea*-Intermediat weit positiver auf die Wuchsstoffgaben als *Dioscorea mangenotiana*, zum anderen führte beim *Dioscorea*-Intermediat die Gabe von NAA alleine zu schlechten Ergebnissen bei allen

Medium	BAP [μ M]	NAA [μ M]	Sprosse [Anzahl]	Sprosse [cm]	Neue Nodien [Anzahl]	Verwertbare Nodien [Anzahl]
1	0	0	1,70 ^{cde}	4,82 ^{abc}	1,95 ^{bcd}	0,45 ^{abc}
2	0	2,5	0,90 ^{abc}	6,23 ^{bcd}	1,10 ^{abc}	0,65 ^{abcde}
3	0	5	0,55 ^{ab}	2,39 ^{ab}	0,60 ^{ab}	0,35 ^{ab}
4	0	10	0,10 ^a	0,40 ^a	0,10 ^a	0,00 ^a
5	2,5	0	1,95 ^{de}	11,04 ^d	3,60 ^{ef}	2,30 ^f
6	2,5	2,5	2,37 ^e	7,63 ^{bcd}	3,44 ^{ef}	1,87 ^{def}
7	2,5	5	2,23 ^e	7,26 ^{bcd}	3,35 ^{ef}	1,82 ^{cdef}
8	2,5	10	1,60 ^{cde}	6,51 ^{bcd}	2,27 ^{cdef}	1,20 ^{abcdef}
9	5	0	1,65 ^{cde}	7,43 ^{bcd}	3,30 ^{ef}	2,00 ^{ef}
10	5	2,5	1,90 ^{de}	10,19 ^{cd}	3,75 ^f	1,90 ^{def}
11	5	5	2,15 ^{de}	5,22 ^{abc}	2,90 ^{def}	1,60 ^{bcdef}
12	5	10	2,25 ^e	4,86 ^{abc}	3,08 ^{def}	1,50 ^{bcdef}
13	10	0	1,75 ^{cde}	7,87 ^{bcd}	3,37 ^{ef}	1,37 ^{bcdef}
14	10	2,5	1,69 ^{cde}	7,97 ^{bcd}	2,77 ^{def}	1,38 ^{abcdef}
15	10	5	1,66 ^{cde}	4,55 ^{abc}	3,00 ^{def}	1,00 ^{abcdef}
16	10	10	1,28 ^{bcd}	5,50 ^{abcd}	1,57 ^{abcd}	0,57 ^{abcd}

Tabelle 7: Varianzanalyse des Einflusses von BAP und NAA auf die durchschnittliche Sprossbildung, Sprosslänge, Anzahl neuer Nodien und Anzahl verwertbarer Nodien pro Explantat in Nodienkulturen von *Dioscorea*-Intermediat. Werte mit gleichen Kleinbuchstaben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ($p \leq 0.05$, $n=20$).

vier Parametern (Sprosszahl, Sprosslänge, Zahl der neuen und verwertbaren Nodien).

Im Detail ergab die genaue Auswertung folgendes für das *Dioscorea*-Intermediat: Durch geringe bis mittelhohe Gaben von BAP und NAA (etwa 2,5/2,5, 5/2,5, 2,5/5) wurden weit mehr Nodien erhalten als ohne Wachststoffe, wobei es zweitrangig war, ob BAP oder NAA im Überschuß vorlag (siehe Tabelle 7).

Aber auch hohe kombinierte Wachststoffgaben wie etwa 5/10 oder 10/10 wurden besser vertragen als von *D. mangelotiana*. Die Gabe von NAA alleine (0/2,5, 0/5, 0/10) führte allerdings beim *Dioscorea*-Intermediat zu schlechten Ergebnissen mit wenigen Sprossen, geringem Längenwachstum der Sprosse und dementsprechend kaum Nodien. Bei *D. mangelotiana* zeigte sich das genau gegenteilige Bild. Mit

NAA-Gaben alleine wurden dort sehr gute Ergebnisse erzielt. Beim *Dioscorea*-Intermediat wirkten sich die Medien, die BAP unkombiniert in hoher Konzentration enthielten (5/0, 10/0), in Sprosszahl und -länge und in der Zahl der neuen Nodien weit besser aus.

Am besten schnitten beim *Dioscorea*-Intermediat jene Medien ab, die BAP und NAA kombiniert in mittlerer Konzentration enthielten bzw. BAP alleine in niedriger bis mittlerer Konzentration. Die meisten Sprosse ergaben sich mit den Konzentrationen 2,5/2,5, 2,5/5 und 5/10. Das Längenwachstum wurde durch die Konzentrationen 2,5/0 und 5/2,5 am besten gefördert. Die meisten Nodien wurden mit 2,5/0, 2,5/2,5 und 5/2,5 erzielt und die größte Zahl der zur Vermehrung brauchbaren Nodien wurde mit 2,5/0, 5/0 und 5/2,5 erhalten.

Die *Kallusbildung* wurde durch höhere NAA-Konzentrationen gefördert und war bei den Medien, in denen nur BAP vorhanden war, kaum vorhanden (siehe Tabelle 8, Seite 18).

Bei der *Wurzelbildung* reagierten die Explantate erwartungsgemäß - mit steigender NAA-Konzentration stieg meist auch die Wurzelbildung; mit steigender BAP Konzentration sank sie, wobei auch hier wieder mit 0/0, d.h. ohne Wachststoffe, eine sehr gute Wurzelbildung von 90 Prozent erreicht wurde.

Browning zeigte sich wie bei *D. mangelotiana* bei Konzentrationen ab 2,5/2,5; besonders stark trat es bei 10 μ M BAP (10/0) auf.

Die meisten *Mikroknollen* bildeten sich beim *Dioscorea*-Intermediat mit 10 μ M BAP (10/0), aber auch mit 0/2,5.

Medium	BAP [μ M]	NAA [μ M]	Kallus [%]	Wurzeln [%]	Mikroknollen [%]	Browning [%]
1	0	0	0	90	35	10
2	0	2,5	65	100	100	0
3	0	5	70	100	80	0
4	0	10	80	70	45	0
5	2,5	0	0	15	75	0
6	2,5	2,5	40	95	85	80
7	2,5	5	80	75	75	70
8	2,5	10	100	80	65	65
9	5	0	0	0	70	40
10	5	2,5	85	50	65	85
11	5	5	70	20	45	70
12	5	10	95	35	70	60
13	10	0	5	5	100	80
14	10	2,5	75	15	100	100
15	10	5	100	5	100	100
16	10	10	50	0	90	100

Tabelle 8: Einfluss von BAP und NAA auf Kallusbildung, Wurzelbildung, Mikroknollenbildung und Browning in Nodienkulturen von *Dioscorea*- Intermediat (n=20).

3.1.3 *D. cayenensis*

Bereits nach zwei Wochen machten die Explantate auf wuchsstofffreiem Medium optisch den besten Eindruck; hier gab es die größten Blätter, kräftige Sprosse und feine, dichte Wurzeln (siehe Abbildung 5).

Die Sprosse erreichten auf wuchsstofffreiem Medium eine beträchtliche durchschnittliche Länge von 10,3 cm (bedeutend mehr als beim *Dioscorea*-Intermediat mit nur 4,8 cm und etwas weniger als bei *D. mangelotiana* mit 12,9 cm). Doch auch hier waren die Sprosse – wie beim *Dioscorea*-Intermediat – eher krumm gewachsen und lieferten nur wenige für die Vermehrung nutzbare Nodien (siehe Tabelle 9, Seite 20).

Der besseren Übersichtlichkeit halber sind die Ergebnisse bezüglich Sproß- und Nodienbildung in zwei Tabellen dargestellt: Tabelle 9 listet die reinen Zahlenwerte

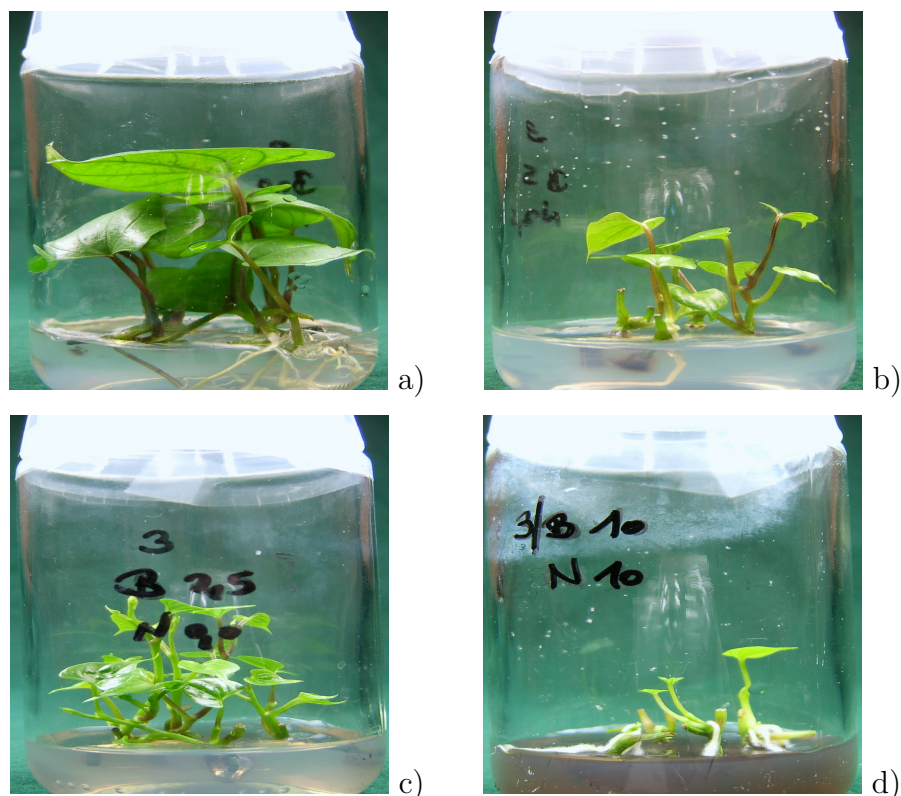


Abbildung 5: Einfluss von BAP und NAA auf die Nodienkulturen von *D. cayenensis* nach 8 Wochen. a) 0/0 (Vergleich) b) 5/2.5 (zweitbestes Medium) c) 2.5/0 (bestes Medium) d) 10/10 (ungünstiges Medium). Angaben in μM (BAP/NAA).

Medium	BAP [μ M]	NAA [μ M]	Sprosse [Anzahl]	Sprosse [cm]	Neue Nodien [Anzahl]	Verwertbare Nodien [Anzahl]
1	0	0	1,25 \pm 0,1	10,30 \pm 1,7	1,60 \pm 0,2	0,85 \pm 0,2
2	0	2,5	1,10 \pm 0,1	18,02 \pm 2,5	1,85 \pm 0,3	1,50 \pm 0,2
3	0	5	0,60 \pm 0,2	11,92 \pm 3,9	1,25 \pm 0,3	0,90 \pm 0,3
4	0	10	0,75 \pm 0,2	8,82 \pm 2,2	1,20 \pm 0,2	0,65 \pm 0,2
5	2,5	0	2,37 \pm 0,2	8,93 \pm 1,0	3,84 \pm 0,4	2,37 \pm 0,4
6	2,5	2,5	1,50 \pm 0,1	9,42 \pm 1,1	2,00 \pm 0,2	0,94 \pm 0,2
7	2,5	5	1,73 \pm 0,2	9,07 \pm 1,0	2,60 \pm 0,4	1,20 \pm 0,2
8	2,5	10	1,53 \pm 0,2	11,53 \pm 1,2	2,00 \pm 0,3	1,26 \pm 0,2
9	5	0	2,33 \pm 0,3	7,91 \pm 1,1	3,94 \pm 0,5	2,16 \pm 0,4
10	5	2,5	1,81 \pm 0,2	8,79 \pm 1,1	2,69 \pm 0,4	1,37 \pm 0,2
11	5	5	1,42 \pm 0,2	9,75 \pm 2,0	1,92 \pm 0,3	0,83 \pm 0,2
12	5	10	1,20 \pm 0,1	8,20 \pm 1,6	1,40 \pm 0,2	0,40 \pm 0,1
13	10	0	2,22 \pm 0,2	8,07 \pm 0,8	3,28 \pm 0,4	1,11 \pm 0,2
14	10	2,5	2,23 \pm 0,3	7,19 \pm 1,0	3,23 \pm 0,4	0,82 \pm 0,2
15	10	5	1,57 \pm 0,2	9,99 \pm 1,3	2,78 \pm 0,4	0,92 \pm 0,2
16	10	10	1,50 \pm 0,2	4,69 \pm 0,7	1,75 \pm 0,2	0,16 \pm 0,1

Tabelle 9: Einfluss von BAP und NAA auf Sprossanzahl, Sprosslänge, Anzahl neuer Nodien und Anzahl verwertbarer Nodien in Nodienkulturen von *Dioscorea cayenensis* (n=20, Mittelwert \pm Standardfehler).

mit Standardfehler auf, während Tabelle 10 (Seite 21) die Ergebnisse der Varianzanalyse darstellt.

Zum Vergleich: Auf wuchsstofffreiem Medium lieferte *D. cayenensis* durchschnittlich 0,85 brauchbare Nodien, das *Dioscorea*-Intermediat 0,45 und *D. mangenotiana* 1,30 Nodien.

Nach der dritten Versuchswoche fielen vor allem die Explantate auf dem Medium mit der Konzentration 2,5 BAP/2,5 NAA auf. Sie waren nach drei Wochen besonders gut entwickelt und wiesen viele große Blätter und kräftige Wurzeln auf, hatten also gegenüber dem wuchsstofffreien Medium aufgeholt.

Nach acht Wochen Versuchsdauer zeigte sich folgendes Bild: Die Explantate auf dem Medium 2,5/2,5 wiesen nach wie vor die größten Blätter und einen kräftigen

Medium	BAP [μ M]	NAA [μ M]	Sprosse [Anzahl]	Sprosse [cm]	Neue Nodien [Anzahl]	Verwertbare Nodien [Anzahl]
1	0	0	1,25 ^{bcd}	10,30 ^{ab}	1,60 ^{ab}	0,85 ^{abc}
2	0	2,5	1,10 ^{abc}	18,02 ^c	1,85 ^{abc}	1,50 ^{cd}
3	0	5	0,60 ^a	11,92 ^b	1,25 ^a	0,90 ^{abc}
4	0	10	0,75 ^{ab}	8,82 ^{ab}	1,20 ^a	0,65 ^{abc}
5	2,5	0	2,37 ^f	8,93 ^{ab}	3,84 ^e	2,37 ^e
6	2,5	2,5	1,50 ^{cd}	9,42 ^{ab}	2,00 ^{abc}	0,94 ^{abc}
7	2,5	5	1,73 ^{cde}	9,07 ^{ab}	2,60 ^{bcd}	1,20 ^{bc}
8	2,5	10	1,53 ^{cd}	11,53 ^{ab}	2,00 ^{abc}	1,26 ^{bc}
9	5	0	2,33 ^{ef}	7,91 ^{ab}	3,94 ^e	2,16 ^{de}
10	5	2,5	1,81 ^{def}	8,79 ^{ab}	2,69 ^{bcd}	1,37 ^{cd}
11	5	5	1,42 ^{cd}	9,75 ^{ab}	1,92 ^{abc}	0,83 ^{abc}
12	5	10	1,20 ^{bcd}	8,20 ^{ab}	1,40 ^a	0,40 ^{ab}
13	10	0	2,22 ^{ef}	8,07 ^{ab}	3,28 ^{de}	1,11 ^{bc}
14	10	2,5	2,23 ^{ef}	7,19 ^{ab}	3,23 ^{de}	0,82 ^{abc}
15	10	5	1,57 ^{cd}	9,99 ^{ab}	2,78 ^{cd}	0,92 ^{abc}
16	10	10	1,50 ^{cd}	4,69 ^a	1,75 ^{abc}	0,16 ^a

Tabelle 10: Varianzanalyse des Einflusses von BAP und NAA auf die durchschnittliche Sprossbildung, Sprosslänge, Anzahl neuer Nodien und Anzahl verwertbarer Nodien pro Explantat in Nodienkulturen von *Dioscorea cayenensis*. Werte mit gleichen Kleinbuchstaben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ($p \leq 0.05$, $n=20$).

Wuchs auf, aber es kam kaum zu Sproßverzweigungen. Mit BAP in der Konzentration 2,5 alleine, d.h. ohne NAA, kam es zu kleineren Blättern, aber weit mehr Sproßverzweigungen und damit vielen neuen Nodien. Bei jenen Medien, in denen NAA erhöht vorlag, etwa 2,5/5 und 2,5/10, war starkes Browning zu beobachten. Auch eine Erhöhung der BAP-Konzentration (Medium 5/10) führte zu keinem besseren Ergebnis. Am schlechtesten wirkte sich die Kombination hoher BAP- und NAA-Gaben aus: Mit der Konzentration 10/10 wurden kaum Wurzeln und nur kümmerliche Sprosse gebildet.

Wurde BAP alleine in hoher Konzentration verwendet (10/0), kam es zu guten Ergebnissen in der Sproßbildung. Es bildeten sich viele kürzere Sprosse, die viele neue Nodien trugen. Es zeigte sich, daß lange Sprosse in Hinblick auf die Vermehrung

durch Nodienkulturen weniger wichtig waren: Viele kürzere Sprosse lieferten weit mehr brauchbare Nodien als wenige lange Sprosse (z.B. Medium 0/5).

Wie beim *Dioscorea*-Intermediat – und im Gegensatz zu *D. mangenotiana* – wirkten sich auch bei *D. cayenensis* höhere NAA-Konzentrationen alleine negativ aus: Die Konzentrationen 0/5 und 0/10 führten bei den Parametern Sproßzahl, neue und verwertbare Nodien zu schlechteren Resultaten.

Die besten Ergebnisse lieferten Medien, die BAP ohne NAA enthielten. Die Medien 2,5/0 und 5/0 führten bei der Anzahl der Sprosse, der Anzahl der neuen und für die Vermehrung verwertbaren Nodien zu guten Ergebnissen.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Species *D. cayenensis* auf die Wuchsstoffe ähnlich reagierte wie das *Dioscorea*-Intermediat.

Mit steigender NAA-Konzentration bildeten sich dickere, weiß behaarte Wurzeln. Starkes *Browning* war bereits ab der dritten Versuchswoche auf allen Medien ab der Wuchsstoffkonzentration 2,5 BAP/2,5 NAA zu beobachten. Die Entwicklung der Explantate wurde dadurch nicht gestört.

Bei den Explantaten, die hohen NAA-Konzentrationen ohne BAP ausgesetzt waren (z.B. 0/10), kam es zur Ausbildung dicker, weißer Wurzeln und teilweise zu starkem Browning, und es gab Probleme bei der Sproßausbildung. Auch gab es nur wenige, schwach entwickelte Blätter.

Hohe NAA-Konzentrationen förderten auch die *Kallusbildung* bei *D. cayenensis*. Lag BAP im Überschuß vor, wurde kaum Kallus beobachtet (z.B Konzentrationen 5/0; 10/2,5).

Auch bei der Bildung von *Mikroknollen* war ein NAA-Überschuß im Medium der Knollenbildung förderlich (z.B. Konzentrationen 0/5, 2,5/5, siehe Tabelle 11, Seite 23).

Medium	BAP [μ M]	NAA [μ M]	Kallus [%]	Wurzeln [%]	Mikroknollen [%]	Browning [%]
1	0	0	0	100	60	35
2	0	2,5	40	100	80	35
3	0	5	60	95	80	25
4	0	10	70	100	75	85
5	2,5	0	15	35	70	80
6	2,5	2,5	25	90	70	95
7	2,5	5	50	85	85	100
8	2,5	10	75	85	75	90
9	5	0	0	20	45	85
10	5	2,5	15	65	70	100
11	5	5	65	65	80	100
12	5	10	80	55	45	100
13	10	0	10	5	10	85
14	10	2,5	5	65	50	100
15	10	5	55	55	70	100
16	10	10	45	75	60	100

Tabelle 11: Einfluss von BAP und NAA auf Kallusbildung, Wurzelbildung, Mikroknollenbildung und Browning in Nodienkulturen von *Dioscorea cayenensis* (n=20).

3.2 Vermehrung von *D. cayenensis* über Mikroknollen

Mikroknollen bieten viele Vorteile bei der in vitro-Vermehrung von Yams. Sie sind leicht zu transportieren und zu verschicken und können ohne vorhergehende Abhärtungsphase im Glashaus ausgepflanzt werden. Die Keimraten sind meist gut, so daß die Induzierung von Mikroknollen eine gute Möglichkeit zur Vermehrung von Yams-Arten bietet (Van Staden und Fowlds, 1992).

Unsere Versuche zur Bildung von Mikroknollen wurden mit Nodienkulturen von *D. cayenensis* 01 durchgeführt. Diese Nodienkulturen wurden zwei verschiedenen NAA-Konzentrationen (2,5 und 5 μM) ausgesetzt. Weiters wurde mit unterschiedlichen Photoperioden (8 und 16 Stunden) und fünf verschiedenen Saccharosekonzentrationen (3, 5, 7, 9, 11 Prozent) gearbeitet (siehe auch Tabelle 2 auf Seite 5).

Bei Versuchsende nach 8 Wochen wurden zwei Parameter ausgewertet, nämlich Anzahl und Gewicht (mg) der gebildeten Mikroknollen (siehe Abbildung 6).

Die Morphologie der gebildeten Mikroknollen war teilweise sehr unterschiedlich und die Knollen waren oft von feinen Wurzeln bedeckt.

3.2.1 Einfluss der Saccharosekonzentration unter Berücksichtigung der Wuchsstoff- und Lichtverhältnisse

Unter allen Bedingungen wurden vergleichbar wenig Mikroknollen gebildet, nur die Explantate auf dem Medium mit 9 Prozent Saccharose und 5 μM NAA (16 Stunden

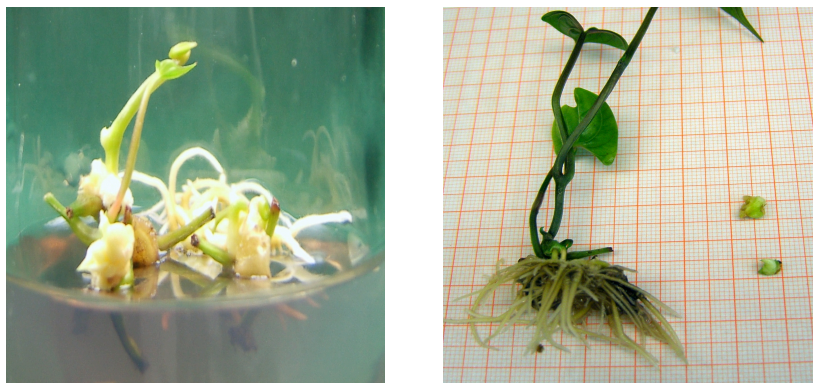


Abbildung 6: Mikroknollenbildung bei *D. cayenensis*.

NAA [μM]	Licht [Stunden]	Saccharose [%]	Mikroknollen [Anzahl \pm SE]	Mikroknollen [mg \pm SE]
2,5	8	3	$1,0^a \pm 0,1$	$29,7^a \pm 5,1$
2,5	8	5	$1,1^a \pm 0,1$	$31,8^a \pm 3,1$
2,5	8	7	$1,2^a \pm 0,1$	$57,3^a \pm 7,0$
2,5	8	9	$1,1^a \pm 0,1$	$92,7^b \pm 11,2$
2,5	8	11	$1,1^a \pm 0,1$	$94,8^b \pm 9,7$
5	8	3	$1,0^a \pm 0,1$	$61,0^a \pm 18$
5	8	5	$1,0^a \pm 0,1$	$47,9^a \pm 5,1$
5	8	7	$1,1^a \pm 0,1$	$56,5^a \pm 8,1$
5	8	9	$1,1^a \pm 0,1$	$65,9^{ab} \pm 6,3$
5	8	11	$1,2^a \pm 0,1$	$76,0^{ab} \pm 9,5$
2,5	16	3	$1,0^a \pm 0,1$	$32,2^a \pm 4,1$
2,5	16	5	$1,1^a \pm 0,1$	$45,3^a \pm 5,2$
2,5	16	7	$1,3^{ab} \pm 0,1$	$87,1^b \pm 12,5$
2,5	16	9	$1,3^{ab} \pm 0,1$	$90,9^b \pm 11,0$
2,5	16	11	$1,1^a \pm 0,1$	$99,8^b \pm 13,7$
5	16	3	$1,0^a \pm 0,1$	$67,1^{ab} \pm 11,3$
5	16	5	$1,0^a \pm 0,1$	$70,7^{ab} \pm 6,1$
5	16	7	$1,2^a \pm 0,1$	$67,2^{ab} \pm 6,5$
5	16	9	$1,4^b \pm 0,1$	$80,6^{ab} \pm 11,9$
5	16	11	$1,0^a \pm 0,1$	$97,2^b \pm 13,6$

Tabelle 12: Varianzanalyse des Einflusses der Saccharosekonzentration auf Anzahl und Gewicht der Mikroknollen bei NAA=2,5 μM bzw. NAA=5 μM . Innerhalb einer Spalte unterscheiden sich Werte mit gleichen Kleinbuchstaben nicht signifikant voneinander ($p \leq 0.05$, $n=20$).

Licht) lieferten signifikant mehr Mikroknollen.

Mit steigender Saccharosekonzentration stieg die Anzahl der Mikroknollen also kaum an. Die höchste Anzahl wurde nicht mit der höchsten Saccharosekonzentration von 11 Prozent, sondern mit 9 Prozent erreicht (siehe Tabelle 12).

Unter Verwendung der niedrigeren Wachstoffsstoffkonzentration von 2,5 μM NAA wirkten sich die verschiedenen Saccharosekonzentrationen nicht signifikant bei der Bildung von Mikroknollen aus. Auffallend war aber, daß in absoluten Zahlen mit 11% Saccharose ein weniger gutes Ergebnis erzielt wurde als mit 7% und 9%.

Auch mit der Wachstoffsstoffkonzentration von 5 μM NAA bewirkten die verschiedenen Zuckeranteile keine großen Unterschiede bei der Anzahl der Mikroknollen. Das in absoluten Zahlen beste Ergebnis von 1,4 Knollen wurde mit einem 9%igen Saccharoseanteil und 16-stündiger Belichtung erreicht; das nächstbeste, nicht signifikant verschiedene Ergebnis von 1,2 Knollen auf dem Medium mit 11% Saccharose und 8-stündiger Belichtung. Es schien sich günstig auf die Anzahl der Mikroknollen auszuwirken, wenn entweder der Zucker- oder der Lichtanteil etwas reduziert war.

Betrachtet man den Einfluss der Saccharosekonzentration auf die Anzahl der Mikroknollen bei jenen Kulturen, die 8 Stunden Belichtung erhielten, so zeigt sich, daß die besten Ergebnisse mit 7- und 11% Saccharose erreicht wurden, der Einfluss der Saccharosekonzentration hier aber insgesamt vernachlässigbar war (keine signifikanten Unterschiede).

Bei 16-stündiger Lichteinwirkung wurde die größte Anzahl an Knollen mit 7 und 9% Saccharose erzielt. Ab einer Saccharosekonzentration von 7% wurden mit 16 Stunden Licht mehr Mikroknollen erzeugt als bei 8 Stunden Licht.

Zusammenfassend läßt sich für den Einfluß der Saccharosekonzentration auf die Anzahl der Mikroknollen sagen, daß es in absoluten Zahlen mit den mittleren Saccharosekonzentrationen von 7- und 9% eine Steigerung gab, die aber nicht signifikant war. Die meisten Mikroknollen wurden auf einem Medium erzielt, das 9 Prozent Saccharose und 5 μM NAA enthielt.

Das Gewicht der Mikroknollen wurde durch die verschiedenen Saccharosekonzentrationen stärker beeinflußt als deren Anzahl.

Mit 3% Saccharose wurden die Mikroknollen mit dem geringsten Gewicht produziert (29,7 mg), und zwar dann, wenn auch nur 2,5 μM NAA und nur 8 Stunden Licht verwendet wurden. Wurde bei dieser Zuckerkonzentration der Lichtanteil gesteigert, so ergab das kaum einen Effekt, wurde aber die NAA-Konzentration gesteigert (NAA=5 μM) so verdoppelte sich das Gewicht der Mikroknollen (61 mg für 3% Saccharose, 5 μM NAA bei 8 Stunden Licht).

Die höchsten Gewichte wurden mit den Zuckerkonzentrationen 9- und 11% erreicht, das Maximum in absoluten Zahlen betrug 99,8 mg (Medium mit 11% Sac-

charose, NAA= 2,5 μ M, Licht=16 Stunden).

Insgesamt ergab sich also für den Einfluss der Saccharosekonzentration auf das Gewicht der Mikroknollen folgendes Bild: Höhere Saccharosekonzentrationen von 7, 9 und 11% ließen das Gewicht der Mikroknollen ansteigen, wobei sich vor allem bei 9 und 11% die niedrigere NAA - Konzentration positiv auswirkte. Hohe Zuckerkonzentrationen, eine größere Lichtmenge und niedrigere Wuchsstoffkonzentrationen wirkten in Richtung einer Gewichtssteigerung.

3.2.2 Einfluss der α -Naphthyllessigsäure (NAA) unter Berücksichtigung der Saccharosekonzentration und der Lichtverhältnisse

Betrachtet man die Anzahl der gebildeten Mikroknollen, so zeigt sich, daß die verschiedenen NAA-Konzentrationen wenig Einfluß darauf hatten. Die Verwendung verschiedener Wuchsstoffkonzentrationen (NAA=2,5 μ M bzw. 5 μ M) führte kaum zu signifikanten Unterschieden bei der Knollenbildung.

Auf das Gewicht der Mikroknollen gab es dagegen einen deutlichen Einfluß. Die NAA-Konzentration von 5 μ M wirkte sich im Vergleich zu 2,5 μ M signifikant gewichtssteigernd aus, wenn die Medien 3- bzw. 5% Saccharose enthielten, also bei niedrigeren Zuckerkonzentrationen. Bei 3% Saccharoseanteil etwa verdoppelte sich das Gewicht der Mikroknollen (siehe Tabelle 13, Seite 28). Bei Nodienkulturen auf Medien, die 7% Saccharose enthielten und 8 Stunden Licht erhielten, war das Gewicht der geernteten Mikroknollen annähernd gleich hoch, gleichgültig ob 2,5 oder 5 μ M NAA verwendet wurden.

Ab einer Saccharosekonzentration von 7% und einer Photoperiode von 16 Stunden erwies sich eine geringere Wuchsstoffkonzentration als vorteilhaft, was in höherem Gewicht der Mikroknollen resultierte. Dieser Trend setzte sich bei den Medien mit 9- und 11% Saccharosekonzentration fort, wo in absoluten Zahlen auf Medien mit 2,5 μ M NAA ebenfalls höheres Gewicht erzielt wurde. Signifikante Unterschiede konnten allerdings nicht festgestellt werden.

Das höchste Gewicht von 99,8 mg ergab sich auf dem Medium mit 2,5 μ M NAA und 11% Saccharose sowie einer Photoperiode von 16 Stunden.

NAA [μ M]	Licht [Stunden]	Saccharose [%]	Mikroknollen [Anzahl \pm SE]	Mikroknollen [mg \pm SE]
2,5	8	3	1,0 ^a \pm 0,1	29,7 ^b \pm 5,1
2,5	8	5	1,1 ^a \pm 0,1	31,8 ^{bc} \pm 3,1
2,5	8	7	1,2 ^a \pm 0,1	57,3 ^{abc} \pm 7,0
2,5	8	9	1,1 ^a \pm 0,1	92,7 ^d \pm 11,2
2,5	8	11	1,1 ^a \pm 0,1	94,8 ^d \pm 9,7
5	8	3	1,0 ^a \pm 0,1	61,0 ^{ac} \pm 18
5	8	5	1,0 ^a \pm 0,1	47,9 ^{abc} \pm 5,1
5	8	7	1,1 ^a \pm 0,1	56,5 ^{abc} \pm 8,1
5	8	9	1,1 ^a \pm 0,1	65,9 ^{ad} \pm 6,3
5	8	11	1,2 ^a \pm 0,1	76,0 ^{ad} \pm 9,5
2,5	16	3	1,0 ^a \pm 0,1	32,2 ^c \pm 4,1
2,5	16	5	1,1 ^a \pm 0,1	45,3 ^{bc} \pm 5,2
2,5	16	7	1,3 ^{ab} \pm 0,1	87,1 ^a \pm 12,5
2,5	16	9	1,3 ^{ab} \pm 0,1	90,9 ^a \pm 11,0
2,5	16	11	1,1 ^a \pm 0,1	99,8 ^a \pm 13,7
5	16	3	1,0 ^a \pm 0,1	67,1 ^{ab} \pm 11,3
5	16	5	1,0 ^a \pm 0,1	70,7 ^{ab} \pm 6,1
5	16	7	1,2 ^a \pm 0,1	67,2 ^{ab} \pm 6,5
5	16	9	1,4 ^b \pm 0,1	80,6 ^a \pm 11,9
5	16	11	1,0 ^a \pm 0,1	97,2 ^a \pm 13,6

Tabelle 13: Varianzanalyse des Einflusses der NAA-Konzentration auf Anzahl und Gewicht der Mikroknollen bei Lichtperioden von 8 bzw. 16 Stunden. Innerhalb einer Spalte unterscheiden sich Werte mit gleichen Kleinbuchstaben nicht signifikant voneinander ($p \leq 0.05$, $n=20$).

Der Einfluß von NAA auf das Gewicht der Mikroknollen war also stärker als auf die Anzahl der gebildeten Mikroknollen. Signifikante Unterschiede gab es bei den niedrigen Zuckerkonzentrationen von 3% und 5%; dort wirkte eine NAA - Konzentration von 5 μ M gewichtssteigernd und das Gewicht der Mikroknollen konnte teilweise verdoppelt werden. Bei den höheren Zuckerkonzentrationen, vor allem bei 9% Saccharoseanteil, wirkte sich die niedrigere NAA - Konzentration von 2,5 μ M günstiger auf das Gewicht der Knollen aus.

NAA [μM]	Licht [Stunden]	Saccharose [%]	Mikroknollen [Anzahl \pm SE]	Mikroknollen [mg \pm SE]
2,5	8	3	$1,0^a \pm 0,1$	$29,7^a \pm 5,1$
2,5	16	3	$1,0^a \pm 0,1$	$32,2^a \pm 4,1$
5	8	3	$1,0^a \pm 0,1$	$61,0^b \pm 18$
5	16	3	$1,0^a \pm 0,1$	$67,1^b \pm 11,3$
2,5	8	5	$1,1^a \pm 0,1$	$31,8^a \pm 3,1$
2,5	16	5	$1,1^a \pm 0,1$	$45,3^{ab} \pm 5,2$
5	8	5	$1,0^a \pm 0,1$	$47,9^b \pm 5,1$
5	16	5	$1,0^a \pm 0,1$	$70,7^c \pm 6,1$
2,5	8	7	$1,2^a \pm 0,1$	$57,3^a \pm 7,0$
2,5	16	7	$1,3^a \pm 0,1$	$87,1^b \pm 12,5$
5	8	7	$1,1^a \pm 0,1$	$56,5^a \pm 8,1$
5	16	7	$1,2^a \pm 0,1$	$67,2^{ab} \pm 6,5$
2,5	8	9	$1,1^a \pm 0,1$	$92,7^a \pm 11,2$
2,5	16	9	$1,3^{ab} \pm 0,1$	$90,9^a \pm 11,0$
5	8	9	$1,1^a \pm 0,1$	$65,9^a \pm 6,3$
5	16	9	$1,4^b \pm 0,1$	$80,6^a \pm 11,9$
2,5	8	11	$1,1^a \pm 0,1$	$94,8^a \pm 9,7$
2,5	16	11	$1,1^a \pm 0,1$	$99,8^a \pm 13,7$
5	8	11	$1,2^a \pm 0,1$	$76,0^a \pm 9,5$
5	16	11	$1,0^a \pm 0,1$	$97,2^a \pm 13,6$

Tabelle 14: Varianzanalyse des Einflusses der Photoperiode auf Anzahl und Gewicht der Mikroknollen bei Saccharosekonzentrationen von 3%, 5%, 7%, 9% und 11% und NAA-Konzentrationen von 2,5 μM bzw. 5 μM . Innerhalb einer Spalte unterscheiden sich Werte mit gleichen Kleinbuchstaben nicht signifikant voneinander ($p \leq 0.05$, $n=20$).

3.2.3 Einfluss von Licht unter Berücksichtigung der Wuchsstoff- und Saccharosekonzentration

Die Anzahl der Mikroknollen wurde durch die Lichtdauer am stärksten beim Medium mit 9% Saccharose beeinflusst (siehe Tabelle 14). Bei 9% Zuckeranteil im Medium wurde bei 16 Stunden Licht eine signifikant höhere Anzahl an Knollen gebildet als bei 8 Stunden Licht, wenn die Wuchsstoffkonzentration 5 μM betrug. Bei der höchsten Zuckerkonzentration von 11% zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.

Die höchste Anzahl von durchschnittlich 1,4 Mikroknollen wurde bei 16 Stunden Licht erzielt. Insgesamt war aber durch die doppelt so lange Lichteinwirkung keine große Verbesserung bei der Anzahl der Mikroknollen zu verzeichnen.

Beim Gewicht der Mikroknollen zeigte sich, daß 16 Stunden Licht meist zu schwereren Knollen führten als 8 Stunden. Auch schon bei den niedrigeren Zuckerkonzentrationen von 3 und 5 Prozent und einer NAA-Konzentration von $2,5 \mu\text{M}$ ließ sich in absoluten Zahlen ein Gewichtszuwachs erkennen. Mit steigender Zuckerkonzentration vergrößerten sich teilweise die Gewichtsunterschiede zwischen den Mikroknollen in Abhängigkeit von der Lichtdauer. Die schwersten Knollen wurden auf den Medien mit 11% Saccharose bei 16stündigem Licht erhalten, wobei sich hier die niedrigere NAA-Konzentration von $2,5 \mu\text{M}$ günstiger auswirkte.

3.2.4 In vitro-Keimung von Mikroknollen

Um bei *D. cayenensis* eine große Anzahl von Mikroknollen mit hohem Gewicht zu erreichen, eigneten sich, wie oben beschrieben, jene Medien am besten, in denen ein hoher Saccharoseanteil von 9 bzw. 11% mit einer NAA-Konzentration von $2,5 \mu\text{M}$ verbunden war, und die Kulturen einer 16stündigen Belichtung ausgesetzt waren. Nun sollte in einem weiteren Schritt die Frage nach der Keimfähigkeit der produzierten Mikroknollen geklärt werden. Würden die Explantate, die auf den oben genannten Medien kultiviert worden waren, nicht nur die meisten und schwersten Knollen, sondern auch die keimfähigsten produzieren?

Um diese Frage zu beantworten, wurden die geernteten Mikroknollen für drei Wochen auf wuchsstofffreiem Medium (MS0) inkubiert. Die Lichtperiode in der Kulturkammer betrug 16 Stunden. Nach drei Wochen waren die Triebe zwei bis drei cm hoch, wiesen kräftige Sprosse, meist ein Nodium und ein bis zwei wohlgeformte Blätter auf.

Nun konnte für jedes Medium die Keimrate bestimmt werden (siehe Tabelle 15, Seite 31).

Die Auswertung zeigte, daß die keimfähigsten Mikroknollen auf Medien mit einem geringen Zuckeranteil gebildet worden waren. Mikroknollen, die auf einem Me-

NAA [μ M]	Licht [Stunden]	Saccharose [%]	Keimrate [%]
2,5	8	3	57,1 ^{abcdef}
2,5	8	5	85,7 ^{ef}
2,5	8	7	73,9 ^{cdef}
2,5	8	9	44,4 ^{abcde}
2,5	8	11	28,6 ^{ab}
5	8	3	80,0 ^{def}
5	8	5	46,7 ^{abcdef}
5	8	7	78,9 ^{def}
5	8	9	43,8 ^{abc}
5	8	11	30,4 ^{ab}
2,5	16	3	86,7 ^f
2,5	16	5	66,7 ^{bcdef}
2,5	16	7	60,0 ^{abcdef}
2,5	16	9	30,0 ^{ab}
2,5	16	11	36,8 ^{abc}
5	16	3	45,5 ^{abcde}
5	16	5	55,6 ^{abcdef}
5	16	7	45,0 ^{abcde}
5	16	9	29,6 ^{ab}
5	16	11	23,1 ^a

Tabelle 15: Varianzanalyse des Einflusses von NAA- und Saccharosekonzentration im Knolleninduktionsmedium sowie Dauer der Lichtperiode während der Induktion auf die Keimrate der Mikroknollen. Werte mit gleichen Kleinbuchstaben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ($p \leq 0.05$, $n=20$).

dium mit 3 Prozent Saccharose und 2,5 μ M NAA bei 16 Stunden Licht gebildet worden waren, wiesen mit 86,7 Prozent die höchste Keimrate auf. Der Einfluß von Licht und Wachstoffsstoffkonzentration war weniger stark ausgeprägt. Die Mikroknollen von Kulturen, die nur achtstündige Belichtung erhielten, waren bei der Keimungsrate leicht begünstigt; eine ursprünglich höhere oder niedrigere NAA-Konzentration im Medium schien die Keimungsrate dagegen kaum zu beeinflussen.

Mikroknollen, die auf einem Medium mit 11 Prozent Saccharose und 5 μ M NAA

bei 16 Stunden Licht gebildet worden waren, ergaben die niedrigste Keimrate von 23,1 Prozent.

Hohe Zuckerkonzentrationen schienen die Keimraten signifikant zu dämpfen.

Mit Medien, die 9 oder 11% Saccharose enthielten, wurden also die besten Ergebnisse bezüglich Anzahl und Gewicht der Knollen erzielt, aber die Keimraten dieser Knollen waren niedrig. Mikroknollen, die auf einem Medium mit 7 Prozent Saccharose und 2,5 μM NAA bei 16 Stunden Licht gebildet worden waren, führten insgesamt zu den besten Ergebnissen. Mit diesem Medium wurde die zweithöchste Anzahl an Mikroknollen erzielt, deren Durchschnittsgewicht von 87,1 mg ebenfalls ganz im oberen Bereich lag und deren Keimrate mit 60 Prozent akzeptabel war.

4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, mittels geeigneter Wuchsstoffkombinationen eine möglichst hohe Vermehrungsrate in Nodienkulturen der *Dioscorea*-Arten *D. mangenotiana*, *D. cayenensis* x *rotundata* und *D. cayenensis* zu erzielen. Die Explantate sollten möglichst viele neue Nodien bilden, aus denen neue Pflanzen gezogen werden können.

Dabei wurde auf Erkenntnisse früherer Untersuchungen (Reichhart 2005; Alizadeh 1998; Malaurie 1995) aufgebaut. Von Reichhart (2005) war der Einfluß folgender Wuchsstoffe getestet worden: BAP (6-Benzylaminopurin), NAA (Naphthylsigsäure), Zeatin und die Kombination von Zeatin und NAA. Es zeigte sich bei Reichhart (2005), daß niedrigere Konzentrationen an Wuchsstoffen einen besseren Einfluß auf die Pflanzen haben, das heißt, die niedrigeren Konzentrationen führten eher zu Pflanzen, die sich zur Gewinnung neuer Explantate eigneten. Bei Reichhart (2005) hatte sich weiters gezeigt, daß die Kombination der Wuchsstoffe BAP und NAA von Interesse sein könnte.

Daher wurden die Wuchsstoffe BAP und NAA in verschiedenen Kombinationen getestet. Auch wurden die Auswirkungen dieser Wuchsstoffe auf die Mikroknollen- und Kallusbildung untersucht und auftretendes Browning (braune Verfärbungen des Nährmediums) wurde vermerkt.

Parallel dazu wurde die Vermehrungsmöglichkeit von *D. cayenensis* über Mikroknollen untersucht. Hier wurden die Einflüsse verschiedener Saccharose- und NAA-Konzentrationen getestet sowie die Auswirkung verschieden langer Photoperioden, da Yams-Knollen im Gegensatz zu Kartoffelknollen Licht zu ihrer Ausbildung bevorzugen (George 1996). Zuletzt wurde noch die Keimfähigkeit der gebildeten Mikroknollen untersucht.

In vielen Arbeiten zur Mikrovermehrung von *Dioscorea*-Arten wird darauf hingewiesen, daß die verschiedenen Arten sehr unterschiedlich auf die jeweiligen Wuchsstoffe und auch auf Licht reagieren. So beschrieb etwa Ng (1992) die unterschiedliche Wirkung verschiedener Photoperioden (8, 12, 16 und 24 Stunden) auf verschiedene

Yams-Arten. Während bei Weißer Yam (*Dioscorea rotundata*) die Zahl der Nodien mit längerer Belichtungszeit anstieg, reagierte Wasser-Yam (*Dioscorea alata*) gegenteilig mit einer höheren Nodienproduktion bei Verringerung der Tageslänge. Shin (2004b) beschrieb die unterschiedliche Auswirkung einer Kombination von BAP und NAA auf drei Genotypen von *D. opposita* (Chinesische Yam) und Lauzer et al. (1992) zeigten für zwei wilde Yamsarten (*D. abyssinica* und *D. mangelotiana*) die unterschiedliche Auswirkung verschiedener Saccharosekonzentrationen (2, 4, 6 und 8%) auf die Bildung von Mikroknollen.

Auch in der vorliegenden Arbeit reagierten die drei Species unterschiedlich auf die Wuchsstoffgaben. *D. mangelotiana* ließ sich am besten mit einer NAA-Konzentration von 5 μM vermehren, während das *Dioscorea*-Intermediat bei dieser NAA-Konzentration die wenigsten neuen Nodien produzierte. Das *Dioscorea*-Intermediat profitierte insgesamt am meisten von niedrigen kombinierten BAP und NAA - Gaben, wobei die beste Vermehrungsrate bei einer BAP - Konzentration von 2,5 μM erreicht wurde. Hier verhielten sich das *Dioscorea*-Intermediat und *D. cayenensis* gleich, denn auch bei *D. cayenensis* wurden die meisten verwertbaren Nodien bei dieser BAP - Menge erzielt. Auf hohe kombinierte Wuchsstoffkonzentrationen (etwa Zusatz von je 10 μM BAP und NAA) reagierte das *Dioscorea*-Intermediat weit besser als die anderen beiden Species, die sich bei solch hohen Wuchsstoffgaben kaum vermehren ließen.

D. mangelotiana zeigte auf wuchsstofffreiem Medium sehr gute Sproßelongation und viele neue Nodien. Dieses Ergebnis deckt sich mit dem Ergebnis von Reichhart (2005). Das *Dioscorea*-Intermediat dagegen produzierte auf wuchsstofffreiem Medium nur wenige Nodien.

Reichhart (2005) beschrieb, daß Explantate, die höheren BAP-Konzentrationen (15 und 20 μM) ausgesetzt waren, einen stark veränderten Habitus aufwiesen. Die Sprosse waren verkürzt und verdickt, und es fanden sich nur wenige kleine Blätter. Es kam auch zu einer Verringerung der Nodienzahl. Diesen Effekt höherer BAP-Konzentrationen beschrieben auch Heble und Staba (1980) sowie Alizadeh et al. (1998). In geringeren Konzentrationen dagegen hat dieses Cytokinin einen sehr positiven Einfluß auf die Entwicklung der Pflanzen. Mitchell et al. (1995) zeigten die

günstigen Auswirkungen von 2,2 μM BAP auf die Entwicklung von Sprossen und auf die Überlebensrate von neuen Explantaten.

Forsyth et al. (1982) zeigten, daß BAP in einer Konzentration von 5 μM weit effektiver bezüglich der Sprossentwicklung war als Kinetin. Bei Konzentrationen über 10 μM BAP dagegen kam es zu deformierten Sprossen.

In der vorliegenden Arbeit wurde aufgrund dieser Erkenntnisse die höchste Konzentration von BAP mit 10 μM angesetzt. Auch bei den hier untersuchten *Dioscorea*-Arten wirkte sich die niedrigste verwendete BAP-Menge von 2,5 μM am günstigsten auf die Spross- und Nodienzahl aus. Beim *Dioscorea*-Intermediat und bei *D. cayenensis* wurde die höchste Anzahl an Sprossen und Nodien mit 2,5 bzw. 5 μM BAP erreicht, wobei sich ein Zusatz von ebensoviel NAA positiv auf die Sprossanzahl auswirkte. Beim *Dioscorea*-Intermediat resultierte ein Zusatz von 10 μM NAA in einer höheren Sproßanzahl. Die Anzahl der für die Mikrovermehrung wichtigen Nodien stieg bei diesen beiden Arten durch die Beifügung von NAA allerdings nur wenig.

Anders stellte sich dies bei *D. mangelotiana* dar, wo die meisten verwertbaren Nodien mit einem Medium erzielt wurden, welches 5 μM NAA und kein BAP enthielt. Mit 2,5 μM BAP und ohne NAA wurde das nächstbeste Ergebnis erreicht; die höchste Anzahl an Sprossen wurde ebenfalls mit 2,5 μM BAP und ohne NAA erzielt.

In Übereinstimmung mit den zuvor erwähnten Untersuchungen konnte also festgestellt werden, daß sich eine niedrige BAP-Konzentration von bis zu 5 μM günstig auf die Sprossentwicklung und Nodienanzahl auswirkte, und ein solches Medium für die Mikrovermehrung von *Dioscorea*-Arten genutzt werden kann.

Reichhart (2005) beobachtete in ihren Untersuchungen das Auftreten von *Browning* bei allen drei *Dioscorea*-Arten, und dies war auch in der vorliegenden Untersuchung der Fall, wobei sich dieses Phänomen hier ebenfalls mit zunehmenden BAP-Konzentrationen verstärkte. Kulturen von *D. cayenensis* wiesen allerdings auch bei NAA-Konzentrationen von 5 und 10 μM und ohne BAP Browning auf.

In einigen Arbeiten wird auf das Vorhandensein endophytischer bzw. nitrifizierender Bakterien in Kulturen von *D. mangelotiana* und *D. cayenensis* hingewiesen

(Lauzer et al., 1992; Ng, 1992; Reichhart, 2005). In der vorliegenden Arbeit traten bei *D. mangelotiana* ebenfalls weiße Bakterienkolonien auf, die das Wachstum der Kulturen jedoch nicht sichtbar beeinträchtigten.

Die Kallusbildung wurde bei allen drei Arten durch höhere NAA-Konzentrationen von 5 und 10 μM gefördert. Wurde eine Kombination von BAP und NAA verwendet, so kam es teilweise zu einem Anstieg der Kallusbildung (nicht bei *D. mangelotiana*; am meisten ausgeprägt beim *Dioscorea*-Intermediat), die Unterschiede zu reinen NAA-Medien waren aber gering. Reichhart (2005) stellte die kallusfördernde Wirkung von NAA auf die drei Klone ebenfalls fest.

Die Mikroknollenbildung wurde bei *D. mangelotiana* und beim *Dioscorea*-Intermediat in erster Linie von den BAP-Konzentrationen beeinflusst. Bei *D. cayenensis* dagegen wirkte sich ein höherer NAA-Anteil günstiger aus. Auch Alizadeh et al. (1998) stellten bei ihren Untersuchungen einen positiven Einfluß von NAA auf die Mikroknollenbildung fest.

NAA-hältige Medien förderten nach Reichhart (2005) auch die Vitalität der gewonnenen Explantate. Die durchschnittliche Sprosslänge konnte bei allen drei *Dioscorea*-Arten signifikant gesteigert werden. Es kam zu einer Zunahme der Wurzel- und Kallusbildung, Browning war gegenüber cytokininhaltigen Medien vermindert. Auf einem Medium, das 0,5 μM NAA enthielt, wurde bei *D. mangelotiana* die beste Vermehrungsrate erzielt. Das *Dioscorea*-Intermediat und *D. cayenensis* lieferten dagegen auf zeatinhaltigen Medien bessere Ergebnisse (Reichhart, 2005).

Auch in der vorliegenden Arbeit reagierte die Species *D. mangelotiana* besonders gut auf NAA. Auf dem Medium, das 5 μM NAA und kein BAP enthielt, konnte hier die größte Anzahl neuer, zur Vermehrung nutzbarer Nodien gewonnen werden. Das *Dioscorea*-Intermediat und *D. cayenensis* dagegen konnten weit besser auf BAP-hältigen Medien vermehrt werden, wobei das *Dioscorea*-Intermediat auch von einem niedrigen NAA - Zusatz profitierte, d.h. die Kombination von BAP und NAA zeigte beim *Dioscorea*-Intermediat die größten Vorteile, vor allem bezüglich der Anzahl an Sprossen.

Die durchschnittliche Sprosslänge konnte bei *D. mangelotiana* und *D. cayenensis*

mittels NAA alleine gesteigert werden, während beim *Dioscorea*-Intermediat BAP notwendig war, um eine Steigerung der Sprosslänge zu erreichen.

Die Kombination von BAP und NAA zeigte in der vorliegenden Arbeit je nach Species unterschiedliche Vor- und Nachteile. Bei *D. mangenotiana* brachten die niedrigen bis mittleren BAP und NAA-Konzentrationen (etwa 2,5 μ M BAP/2,5 μ M NAA oder 2,5 μ M BAP/5 μ M NAA) gute Ergebnisse in der Spross- und Nodienanzahl, die durchschnittliche Länge der Sprosse blieb aber zurück und es konnten mit diesen Kombinationen trotz den in Teilbereichen guten Ergebnissen weniger für die Vermehrung nutzbare Nodien gewonnen werden als mit NAA alleine.

Auch das *Dioscorea*-Intermediat sprach in der Sprossbildung sehr gut auf die oben genannte Wuchsstoffkombinationen (2,5 μ M BAP/2,5 μ M NAA und 2,5 μ M BAP/5 μ M NAA) an. Bei der Anzahl der Nodien war der Vorteil dieser Kombinationen zwar weniger stark ausgeprägt, da auch mit BAP alleine in unterschiedlichen Konzentrationen (2,5 μ M BAP bzw. 10 μ M BAP) sehr gute Ergebnisse erreicht wurden, aber mit der Kombination von 5 μ M BAP und 2,5 μ M NAA wurden die meisten neuen Nodien produziert. Mit diesen Wuchsstoffkombinationen ergaben sich auch hohe durchschnittliche Sproßlängen und es konnten viele für die Vermehrung nutzbare Nodien gewonnen werden, wenngleich auch hier die besten Ergebnisse mit BAP alleine erreicht wurden. Insgesamt gesehen ergab die Kombination von BAP und NAA beim *Dioscorea*-Intermediat gute Resultate.

Bei *D. cayenensis* ergab sich mit der Konzentration 2,5/2,5 ebenfalls eine große Anzahl an Sprossen, aber die durchschnittliche Sprosslänge und die Anzahl der neuen Nodien blieb gering. Die längsten Sprosse wurden mit NAA-hältigen Medien ohne BAP erreicht; diese langen Sprosse trugen aber nur wenige neue Nodien. Bei *D. cayenensis* wurden von kürzeren Sprossen mehr neue Nodien gebildet. BAP alleine in allen Konzentrationen (2,5; 5; 10 μ M) lieferte die meisten neuen Nodien; als für die Vermehrung am günstigsten erwiesen sich die BAP-Konzentrationen von 2,5 und 5 μ M.

Malaurie et al. (1995) beschrieben für das *Dioscorea*-Intermediat gute Ergebnisse in Sprosselongation, Sprossanzahl und Wurzelbildung bei der Verwendung niedriger

und mittlerer BAP- und NAA Konzentrationen: Das Medium mit 0,89 μM BAP und 5,38 μM NAA lieferte hier die besten Ergebnisse.

Shin (2004a) untersuchte eine chinesische Yams-Art (*D. opposita*) und beschrieb die Kombination von 5 μM BAP und 5 μM NAA als besonders günstig für die Vermehrung mittels Nodienkultur.

Unter dem Gesichtspunkt der Mikrovermehrung der drei Species konnten beim *Dioscorea*-Intermediat in der vorliegenden Arbeit durch die Kombination von BAP und NAA gute Resultate erzielt werden.

Bei der Vermehrung von Yams über *Mikroknollen* wird meist versucht, durch Zugabe von osmotisch aktiven Komponenten wie Saccharose, mittels Wachstoffsgaben sowie durch Variation der Photoperiode eine Steigerung der Mikroknollenproduktion zu erreichen. Van Staden und Fowlds (1992) beschrieben die Effekte von Saccharose und Kinetin auf die Mikroknollenbildung von *D. bulbifera* und fanden, daß höhere Zuckerkonzentrationen (8%) und Kinetin-Konzentrationen von 5mg/l der Knollenproduktion förderlich waren.

Ng (1992) experimentierte mit ebenso hohen Zuckerkonzentrationen, kombinierte aber ein Auxin (IAA, 5 bis 10 mg/l) mit Kinetin (0,5 mg/l). Auch damit wurde bei *D. bulbifera* die Induktion von Mikroknollen bewirkt. Mikroknollen, die mehr als 90 mg wogen, wurden in Erde gepflanzt und produzierten normale Pflanzen. In der vorliegenden Arbeit konnten mit 9 und 11% Saccharose, 16 Stunden Licht und 2,5 bzw. 5 μM NAA ebenfalls Knollen von über 90 mg Gewicht produziert werden.

Alizadeh et al. (1998) fanden ebenfalls 8% Saccharose als besonders günstig für die Mikroknolleninduktion, durchaus vergleichbar mit den guten Ergebnissen, die mit 9% Saccharose in der vorliegenden Arbeit erreicht wurden.

In Übereinstimmung mit der vorliegenden Arbeit wurde bei Poornima und Rai (2007), Alizadeh et al. (1998) und Alhassan und Mantell (1994) festgestellt, daß die Morphologie der gebildeten Mikroknollen teilweise sehr unterschiedlich und die Knollen oft von feinen Wurzeln bedeckt waren.

Ng (1988) bezog sich auf vorangegangene Arbeiten, die beschrieben, daß Kohlenhydrate wie Glucose die Beförderung der Wachstoffs in der Pflanze erleichterten,

und postulierte den gleichen Effekt für Saccharose. In der vorliegenden Arbeit wurde festgestellt, daß bei niedrigeren Saccharosekonzentrationen (3 und 5%) die höhere NAA-Konzentration von 5 μ M zu höherem Knollengewicht führte, und umgekehrt sich bei Saccharosekonzentrationen von 9% weniger NAA (2,5 μ M) günstiger auf das Gewicht auswirkte. Dies könnte ein Hinweis auf den oben genannten Effekt sein.

Insgesamt gesehen wurde in der vorliegenden Arbeit die Anzahl der Mikroknollen weniger stark von den verschiedenen Saccharosekonzentrationen beeinflußt als das Gewicht der Mikroknollen. Bei Saccharosekonzentrationen von 9 und 11% wurden die schwersten Mikroknollen produziert.

Um die Bildung von Mikroknollen zu fördern, werden verschiedene Wuchsstoffe eingesetzt, wobei auch hier wieder festzustellen ist, daß die verschiedenen Species unterschiedlich auf die Wuchsstoffgaben reagieren. Während für BAP teilweise hemmende Effekte festgestellt wurden, haben sich Auxine wie NAA bei der Induktion von Mikroknollen bewährt. Jean und Cappadocia (1991) und Alizadeh et al. (1998) beschrieben diese fördernden Effekte, und bei einer NAA-Konzentration von 5 μ M konnten Mikroknollen produziert werden, die innerhalb von zwei Wochen auf Sand keimten.

Jasik und Mantell (2000) untersuchten die Wirkung von Jasmonsäure auf drei für Ernährungszwecke wichtige Yamsarten (*D. alata*, *D. cayenensis* und *D. rotundata*). Jasmonsäure und ihre Derivate sind erst in jüngerer Zeit als wichtige Wachstumsfaktoren in Pflanzen erkannt worden, die wichtige physiologische Prozesse beeinflussen und auch bei der Mikroknollenbildung eine Rolle spielen. In der genannten Studie konnte mittels Jasmonsäure bzw. Methyljasmonsäure die Mikroknollenbildung bei allen drei Species unterstützt werden.

In der vorliegenden Arbeit wurden jeweils 2,5 bzw. 5 μ M NAA verwendet. Es zeigte sich, daß der Einfluß der Wuchsstoffkonzentration auf die Anzahl der Mikroknollen nur gering war; der Einfluß auf das Gewicht war bedeutend größer. Bei Verwendung niedriger Zuckerkonzentrationen von 3 und 5% wirkte sich eine NAA-Konzentration von 5 μ M NAA signifikant gewichtssteigernd aus. Das Gewicht der Mikroknollen konnte teilweise verdoppelt werden. Bei höherer Saccharosekonzentra-

tion (ab 9%) wirkte sich die niedrigere NAA-Konzentration von $2,5 \mu\text{M}$ besser auf das Gewicht aus.

Auch die Auswirkungen verschieden langer Photoperioden auf die Bildung von Mikroknollen sind bei Yams von Art zu Art verschieden. Mehrere Studien beschäftigten sich mit den Auswirkungen völliger Dunkelheit bis hin zu Lichtperioden mit 8, 12, 16 und 24 Stunden (Jean und Cappadocia, 1991; Mantell und Hugo, 1989; u.a.). In der vorliegenden Arbeit wurden 8 und 16stündige Photoperioden gewählt. Auch wenn sich bei der höchsten verwendeten Saccharosekonzentration von 11% die 8stündige Photoperiode günstiger auf die Anzahl der Knollen auswirkte, so gab es hier doch insgesamt keine signifikanten Unterschiede und auch bei 16 Stunden Licht wurde keine große Verbesserung bei der Anzahl der Knollen erreicht.

Das Gewicht der Mikroknollen wurde hingegen bei der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Species *D. cayenensis* durch eine 16stündigen Photoperiode deutlich erhöht. Das höchste Gewicht wurde mit 11% Saccharose, $2,5 \mu\text{M}$ NAA und 16 Stunden Licht erzielt.

Bei Lauzer et al. (1992) erwies sich für *D. abyssinica* hingegen eine 8stündige Photoperiode als günstiger. Bei 8 Stunden Licht wurden die schwersten Knollen erzielt, unabhängig von der jeweiligen Saccharosekonzentration (2%, 4%, 6% und 8%). Jean und Cappadocia (1991) kamen für *D. abyssinica* und für *D. alata* zum gleichen Ergebnis.

Van Staden und Fowlds (1992) berichteten für *D. bulbifera* ebenfalls von Vorteilen 8stündiger Photoperioden, wobei sich bei dieser Species niedrige Nachttemperaturen zusätzlich günstig auf die Knolleninduktion auswirkten.

Für die Species *D. rotundata* hingegen wurde bei Ng (1992) festgestellt, daß 12 und 16 Stunden Tageslicht die Anzahl der Knollen erhöhten, während 8 und 24 Stunden Licht sich als nicht geeignet erwiesen.

Alizadeh et al. (1998) beschrieben für die *Keimung* von Mikroknollen eine Keimungsrate von 60-87% nach zwei Wochen, abhängig von den in den Medien verwendeten Wuchsstoffen, wobei u.a. NAA, Kinetin, IAA (Indol-3-Essigsäure) und IBA (Indol-3-Buttersäure) zum Einsatz kamen.

Bazabakana und Fauconnier (1999) fügten dem MS-Medium Jasmonsäure in verschiedenen Konzentrationen hinzu, um die Wirkung auf die Keimung von Mikroknollen zu prüfen. Es wurde festgestellt, daß die Keimrate durch geringe Mengen Jasmonsäure (0,1 und 1 μM) gefördert wurde. Höhere Konzentrationen an Jasmonsäure (30 und 100 μM) dagegen verhinderten die Keimung. Dieser Prozess war aber reversibel - wurden die inhibierten Knollen auf hormonfreies Medium gesetzt, kam es doch noch zur Keimung.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Keimung auf wuchsstofffreiem Murashige und Skoog Medium (MS 0 Medium) vorgenommen. Es wurden Keimungsraten von 23,1- 86,7% erzielt. Vor allem hohe Saccharosekonzentrationen (9 und 11%) in den Ursprungsmedien der Explantate schienen die Keimrate zu dämpfen. Die höchste Keimrate von 86,7% wurde mit Mikroknollen erzielt, die von Explantaten stammten, deren Medium 3% Saccharose und 2,5 μM NAA enthielt. Die Keimlinge waren nach zwei bis drei Wochen etwa 3 cm hoch und kräftig.

In neueren Untersuchungen wird zunehmend die Eignung *temporärer Immersionssysteme (TIS)* zur Mikrovermehrung von Kartoffeln und Yams geprüft. Donnelly (2003) beschrieb damit gute Ergebnisse für die Kartoffel, und auch für verschiedene *Dioscorea*-Arten scheint dieses System Vorteile gegenüber festen Kulturmedien zu haben. Jova et al. (2005) konnten mit einem solchen halbautomatischen System sehr gute Ergebnisse in Anzahl und Gewicht von Yams-Mikroknollen erzielen. Verwendet wurde ein MS-Basismedium mit 10% Saccharose und 0,5mg/l Kinetin. Ein großer Vorteil gegenüber festen Kulturmedien scheint dabei zu sein, daß die verschiedenen Regionen, an denen Mikroknollen entstehen können, immer wieder kurz in Kontakt mit dem Medium kommen und es so mehr Signale gibt, die zur Bildung von Mikroknollen anregen.

In weiterführenden Untersuchungen sollte überprüft werden, ob sich bei den von uns bearbeiteten *Dioscorea*-Arten die Mikroknollenbildung in einem TIS steigern lässt.

5 Zusammenfassung

Die stärkeführenden Knollen der Yamspflanze (Familie *Dioscoreaceae*) stellen in vielen tropischen Ländern ein wichtiges Grundnahrungsmittel dar. Außerdem führen die Knollen mancher Arten Diosgenin, welches zur Partialsynthese verschiedener Steroidwirkstoffe herangezogen werden kann. Die Vermehrung dieser zweihäusigen Pflanze ist allerdings problematisch, da kaum Blüten und keimfähige Samen gebildet werden und die in der Landwirtschaft übliche vegetative Vermehrung oft zur Weitergabe von viralen- und Pilzerkrankungen führt.

Hier bieten die Techniken der Gewebekultur gute Möglichkeiten, zu einer großen Zahl pathogenfreier Pflanzen zu kommen. Über Nodienkulturen kann eine große Menge virusfreier, genetisch einheitlicher Jungpflanzen erzeugt werden; Mikroknollen bilden leicht zu transportierendes, unproblematisches Saatgut.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, für die drei *Dioscorea*-Arten *D. mangenotiana*, *D. cayenensis* x *rotundata* und *D. cayenensis* geeignete Nährmedien für die Mikrovermehrung über Nodienkultur und Mikroknollen zu finden, wobei auf früheren Untersuchungen aufgebaut wurde. Diese hatten gezeigt, daß die Kombination der Wuchsstoffe BAP und NAA in niedrigeren Konzentrationen von Interesse sein könnte. In den Versuchen zur Induktion von *Nodienkulturen* wurden 16 Kombinationen dieser beiden Wuchsstoffe über acht Wochen getestet.

Die Versuche zu den Mikroknollen wurden an Nodienkulturen der Species *D. cayenensis* durchgeführt. Den Nährmedien wurden unterschiedliche Mengen Saccharose und NAA zugegeben; weiters wurde die Dauer der Photoperiode variiert - ein Teil der Nodienkulturen erhielt 8 Stunden Licht, ein Teil 16 Stunden.

Die drei *Dioscorea*-Arten reagierten unterschiedlich auf die verschiedenen Wuchsstoffkombinationen. Beim *Dioscorea*-Intermediat ergab die Kombination der Wuchsstoffe BAP und NAA gute Resultate. Gegenüber dem Medium ohne Wuchsstoffe konnten mit den Konzentrationen 2,5 μ M BAP und 2,5 μ M NAA bzw. 5 μ M BAP und 2,5 μ M NAA signifikant mehr neue Nodien für die Mikrovermehrung gewonnen werden. Diese Konzentrationen führten auch zu einer signifikanten Steigerung von

Sprossanzahl und Sprosslänge. Die größte Anzahl an für die Vermehrung nutzbaren Nodien wurde mit der Konzentration $2,5 \mu\text{M}$ BAP ohne NAA erzielt. Es hat sich also gezeigt, daß die niedrigeren Wuchsstoffkonzentrationen am zielführendsten waren.

Bei *D. cayenensis* wurde die größte Zahl an verwertbaren Nodien ebenfalls mit der Konzentration $2,5 \mu\text{M}$ BAP gewonnen. Bei der Anzahl der Sprosse bewirkte die Kombination $2,5 \mu\text{M}$ BAP und $2,5 \mu\text{M}$ NAA eine Steigerung. Bei der Sprosslänge wurde das signifikant beste Ergebnis mit $2,5 \mu\text{M}$ NAA erreicht.

Bei *D. mangenotiana* wirkte sich die Kombination $2,5 \mu\text{M}$ BAP und $2,5 \mu\text{M}$ NAA ebenfalls günstig auf die Sprossanzahl aus - dies traf also auf alle drei Species zu. Mit $2,5 \mu\text{M}$ BAP alleine ergab sich jedoch eine noch etwas höhere Sprossanzahl. Die Mikrovermehrung von *D. mangenotiana* gelang am besten auf einem Medium, das als Wuchsstoff nur NAA in der Konzentration $5 \mu\text{M}$ enthielt. Damit wurde eine signifikante Steigerung der Ausbildung von nutzbaren Nodien erreicht. Im Gegensatz zu den beiden anderen Species wurden hier auch ganz ohne Wuchsstoffe gute Ergebnisse erzielt. *D. mangenotiana* reagierte am empfindlichsten auf hohe Wuchsstoffkonzentrationen.

Bei den Versuchen zur Vermehrung von *D. cayenensis* über Mikroknollen zeigte sich, daß die Saccharosekonzentration, die NAA-Konzentration und die Dauer der Photoperiode auf das Gewicht der Mikroknollen einen größeren Einfluß hatten als auf deren Anzahl. Mit steigendem Saccharoseanteil stieg auch das Gewicht der Mikroknollen an; das höchste durchschnittliche Gewicht von $99,78 \text{ mg}$ wurde auf einem Medium erzielt, das 11% Saccharose und $2,5 \mu\text{M}$ NAA enthielt und bei dem die Nodienkulturen 16 Stunden Licht erhielten. Das Gewicht konnte also mittels höherer Zuckerkonzentrationen, längerer Lichtperioden und niedrigerer Wuchsstoffkonzentrationen gesteigert werden.

Bei niedrigen Saccharosekonzentrationen von 3 und 5% ergaben sich signifikante Gewichtssteigerungen, wenn $5 \mu\text{M}$ NAA statt $2,5 \mu\text{M}$ NAA verwendet wurden. Damit konnte das Gewicht der Mikroknollen teilweise verdoppelt werden.

Bei einer Photoperiode von 16 Stunden wurden schwerere Knollen erzielt als bei

8 Stunden. Ein Gewichtszuwachs durch eine längere Photoperiode war schon bei den niedrigeren Saccharosekonzentrationen zu erkennen; mit steigenden Saccharosekonzentrationen wurde dieser Effekt noch größer.

Bei der Auswertung der Keimraten zeigte sich, daß jene Explantate, die auf einem Medium mit 3% Saccharose und $2,5\mu\text{M}$ NAA kultiviert wurden, und die einer Photoperiode von 16 Stunden ausgesetzt waren, Mikroknollen mit der höchsten Keimrate von 86,7% produzierten.

Insgesamt konnte also gezeigt werden, daß sich die drei unterschiedlichen *Dioscorea*-Arten über pflanzliche Gewebekultur mit gutem Erfolg vermehren lassen, wobei sowohl Nodienkultur- als auch Mikroknollentechniken eingesetzt werden können.

6 Literatur

- Alhassan, A. Y., Mantell, S. H. (1994), Manipulation of cultural factors to increase microtuber size and frequency in shoot cultures of food yam, *Dioscorea alata* L.cv. oriental lisbon, *Acta Hort.* **380**: 342-348.
- Alizadeh, S., Mantell, S. H., Viana, A. M. (1998), In vitro shoot culture and microtuber induction in the steroid yam *Dioscorea composita* Hemsl, *Plant Cell Tissue Organ Cult.* **53**: 107-112.
- Asahira, T., Nitsch, J. (1969), Effect of polarity and kinetin on the browning reaction of *Dioscorea batatas* and *D. japonica*, *Planta Med.* **84**: 292-294.
- Bazabakana, R., Fauconnier, M. L. (1999), Control of *Dioscorea alata* microtuber dormancy and germination by jasmonic acid, *Plant Growth Regul.* **27**: 113-117.
- Brücher, H. (1977), *Tropische Nutzpflanzen*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Chaturvedi, H. (1975), Propagation of *Dioscorea Floribunda* from in vitro culture of single node stem segments, *Curr. Sci.* **44**: 839-841.
- Dodds, J. H., Rodriguez, S. (1992), Micropropagation of potato (*Solanum tuberosum*), In: Bajaj, Y. P. S. (Hg.) *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Springer Verlag, S. 91-117.
- Donnelly, D. J. (2003), Potato microtuber production and performance: A review, *Am. J. Potato Res.* **1**: 1-14.
- Esdorn, I., Pirson, H. (1973), *Die Nutzpflanzen der Tropen und Subtropen in der Weltwirtschaft*, Gustav Fischer Verlag, zweite Auflage.
- Forsyth, C., Van Staden, J. (1982), An improved method of in vitro propagation of *Dioscorea bulbifera*, *Plant Cell Tissue Organ Cult.* **1**: 275-281.
- Forsyth, C., Van Staden, J. (1984), Tuberization of *Dioscorea bulbifera* stem nodes in culture, *J. Plant Physiol.* **115**: 79-83.

- Frohne, D., Jensen, U. (1998), *Systematik des Pflanzenreiches*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, fünfte Auflage.
- George, F. (1996), *Plant Propagation by Tissue Culture*, Exegetics Limited, Edington, Wilts., zweite Auflage.
- Heble, M. R., Staba, E. J. (1980), Diosgenin synthesis in shoot cultures of *Dioscorea composita*, *Planta Med.* **Supplement**: 120-123.
- Heß, D. (1992), *Biotechnologie der Pflanzen: Eine Einführung*, UTB für Wissenschaft. Ulmer, Stuttgart.
- Jasik, J., Mantell, S. H. (2000), Effects of jasmonic acid and its methylester on in vitro microtuberisation of three food yam (*Dioscorea*) species, *Plant Cell Rep.* **19**: 863-867.
- Jean, M., Cappadocia, M. (1991), In vitro tuberization in *Dioscorea alata* L., *Plant Cell Tissue Organ Cult.* **26**: 147-152.
- John, J. L., Courtney, W. H., Decoteau, D. R. (1993), The influence of plant growth regulators and light on microtuber induction and formation in *Dioscorea alata* L. cultures, *Plant Cell Tissue Organ Cult.* **34**: 245-252.
- Jova, M. C., Kosky, G. R., Perez, M. B. (2005), Production of yam microtubers using a temporary immersion system, *Plant Cell Tissue Organ Cult.* **83**: 103-107.
- Kohmura, H., Araki, H., Imoto, M. (1995), Micropropagation of *yamatoimo* chinese yam *Dioscorea opposita* from immature leaves, *Plant Cell Tissue Organ Cult.* **40**: 271-276.
- Lauzer, D., Laublin, G., Vincent, G. (1992), In vitro propagation and cytology of wild yams, *Dioscorea abyssinica* Hoch. and *D. mangelotiana* Miège, *Plant Cell Tissue Organ Cult.* **28**: 215-223.
- Malaurie, B., Pungu, O., Trouslot, M. F. (1995), Effect of growth regulators concentrations on morphological development of meristem-tips in *Dioscorea cayenensis*

— *D. rotundata complex and D. prachensis*, *Plant Cell Tissue Organ Cult.* **41**: 229-235.

Malaurie, B., Trouslot, M. F., Berthaud, J. (1998), Medium-term and long-term in vitro conservation and safe international exchange of yam germplasm, *El. J. Biotechnol.* **1**: 1-15.

Mantell, S. H., Hugo, S. A. (1989), Effects of photoperiod, mineral medium strength, inorganic ammonium, sucrose and cytokinin on root, shoot and microtuber development in shoot cultures of *Dioscorea alata* L. and *D. bulbifera* L. yams, *Plant Cell Tissue Organ Cult.* **16**: 23-37.

Mitchell, S. A., Asemota, H. N., Ahmad, M. H. (1995), Effects of explant source, culture medium strength and growth regulators on the in-vitro-propagation of three jamaican yams (*D. cayenensis*, *D. trifida*, *D. rotundata*), *J. Sci. Food Agric.* **67**: 173-180.

Murashige, T., Skoog, F. (1962), A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue, *Physiol. Plant.* **15**: 473-497.

Nagasawa, A., Finer, J. (1989), Plant regeneration from embryogenic suspension cultures of chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.), *Plant Sci.* **60**: 263-271.

Ng, S. Y. C. (1988), In vitro tuberization in white yam, *Plant Cell Tissue Organ Cult.* **14**: 121-128.

Ng, S. Y. C. (1992), Micropropagation of white yam, In: Bajaj, Y. P. S. (Hg.) *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Springer Verlag, Band 19, S. 135–159.

Poornima, G. N., Rai, R. (2007), In vitro propagation of wild yams, *Dioscorea oppositifolia* (linn) and *Dioscorea pentaphylla* (linn), *African Journal of Biotechnology* **6**: 2348-2352.

Rehm, S., Espig, G. (1996), *Die Kulturpflanzen der Tropen und Subtropen*, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, dritte Auflage.

- Reichhart, J. M. (2005): *Einfluss von Wuchsstoffen auf die Mikrovermehrung von Dioscorea -Spezies*, Diplomarbeit, Universität Wien.
- Shin, H. J. (2004), Factors affecting the production of in vitro plants from the nodal pieces of chinese yam, *J. Plant Biotechnol.* **6**: 97-102.
- Shin, J. H. (2004), The effects of growth regulators and medium strength on the shoot and bud formation from the shoot apex of chinese yam, *J. Plant Biotechnol.* **6**: 103-106.
- Uduebo, A. E. (1971), Effect of external supply of growth substances on axillary proliferation and development in *Dioscorea bulbifera*, *Ann. Bot.* **35**: 159-163.
- Van Staden, J., Fowlds, D. L. (1992), Micropropagation of medicinal dioscorea species, In: Bajaj, Y. P. S. (Hg.) *High-Tech and Micropropagation III*, Springer Verlag, Band 19, S. 425–441.
- Vernier, P., Orkwor, G. C., Dossou, A. R. (2003), Studies on yam domestication and farmers practices in benin and nigeria, *Agriculture* **32**: 35-41.
- Zoundjiekpon, J. (1998), Biotechnological strategies for yams – promoting food security in africa, *Cah. Agric.* **7**: 516-20.

A Lebenslauf

Mag. Phil. Dina Elsayed-Ali

Geboren am 12.11.1970 in Wien

Staatsbürgerschaft: Österreich

Ausbildung

1981-1989 Nach der Volksschule Besuch des Naturwissenschaftlichen Realgymnasiums in
Wien 22 (Bernoullistraße)

Juni 1989 Matura

1989-1999 Studium der Politikwissenschaft und Geschichte an der Universität Wien, Di-
plomarbeit im Fach Politikwissenschaft: *Bürgerinitiativen in der Risikokom-
munikation, am Beispiel der Planung, Errichtung und des Betriebes der Wie-
ner Hausmüllverbrennungsanlagen Flötzersteig und Spittelau*

Ende 1998 Beginn des Pharmaziestudiums, Berufstätigkeit